

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

18.307

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS



* 5 3 0 9 5 6 7 5 4 0 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

POSIBILIDADES DE MEJORAR EL VALOR NUTRITIVO DE
LA CEBADA (*Hordeum vulgare* L.) PARA LOS POLLOS
MEDIANTE LA ADMINISTRACION DE BACTERIAS
PRODUCTORAS DE ACIDO LACTICO O ENZIMAS

MEMORIA

QUE PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS
PRESENTA

LUIS MARTIN MARTIN


El Doctorando

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Luis Martín Martín', with a long horizontal flourish underneath.

MADRID, Junio de 1992

Visado en Madrid, Junio de 1992

Vo Bo
El Director

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'F. Tortuero', written over a horizontal line.

D. Francisco Tortuero Cosialls
Dr. en Veterinaria

Vo Bo
La Tutora

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mª Luisa Puerta', written over a horizontal line.

Dra. Mª Luisa Puerta
Dra. en CC. Biológicas

DEDICADO A MIS PADRES

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento al Doctor Francisco Tortuero Cosialls, Director del Instituto de Alimentación Animal del C.S.I.C., bajo cuya dirección y revisión se ha llevado a cabo la presente Tesis Doctoral.

Mi gratitud a la Doctora María Luisa Puerta, Profesora Titular de la Cátedra de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, que gratamente consintió en la tutoría de la Tesis.

A D. Fructuoso Martín Bermejo, por su inestimable ayuda en el manejo de los animales y constante ánimo en la realización de todos los experimentos.

A la Doctora Erenia Fernández González, por el incansable apoyo prestado para la culminación de esta Tesis.

A la Doctora Carmen Centeno, por su inestimable ayuda en el análisis de los aminoácidos.

A Mercedes Hernández, por su infinita paciencia, además del estímulo y cariño mostrados durante los años de preparación de la Tesis.

A todos los miembros del Instituto de Alimentación Animal, que de forma muy eficaz me ayudaron en las diversas tareas de este trabajo.

ABREVIATURAS

BAL	Bacterias ácido-lácticas
B-Gl	B-glucanasa
B.bif	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
B.cer	<i>Bacillus cereus</i>
B.sub	<i>Bacillus subtilis</i>
EM	Energía Metabolizable
ES	Error estándar
FB	Fibra bruta
FND	Fibra Neutro Detergente
L.aci	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
L.bul	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
PB	Proteína bruta
p.v.	peso vivo
S.fae	Grupo con <i>Streptococcus faecium</i>
S.the	<i>Streptococcus thermophilus</i>

INDICE

I.- INTRODUCCION	2
II.- ANTECEDENTES	5
2.1.- Valor nutritivo de la cebada	5
2.1.1.- Composición químico-bromatológica	6
2.1.1.1.- Almidón	8
2.1.1.2.- Lípidos y ácidos grasos	11
2.1.1.3.- Proteínas y aminoácidos	13
2.1.1.4.- Fibra	15
2.1.2.- Energía del grano de cebada	18
2.2.1.- β -glucanos	18
2.2.1.1.- Estructura de los β -glucanos	19
2.2.1.2.- Solubilidad de los β -glucanos	20
2.2.1.3.- Viscosidad de los extractos de β -glucanos	21
2.2.1.4.- Factores que afectan al contenido en β -glucanos	22
2.3.- Métodos para mejorar el valor nutritivo de la cebada	22
2.3.1.- Tratamientos físico-químicos	23
2.3.2.- Empleo de enzimas	23
2.3.3.- Irradiación	25
2.3.4.- Uso de antibióticos	25
2.3.5.- Obtención de nuevas variedades	26
2.4.- Utilización de bacterias ácido-lácticas como esti- mulantes del valor nutritivo de los alimentos	28

2.5.- Objetivos del presente trabajo de investigación . .	31
111.- MATERIAL Y METODOS	33
3.1.- Determinación del contenido en β -glucanos de cebadas de las zonas Centro y Sur de España	33
3.2.- Investigaciones en pollos	33
3.2.1.- Aves	33
3.2.2.- Alojamiento y manejo	33
3.2.3.- Dietas	34
3.2.4.- Microorganismos y enzima empleados	36
3.2.5.- Objetivos específicos y diseño experimental	37
3.2.5.1.- Experimento nº 1	37
3.2.5.2.- Experimento nº 2	37
3.2.5.3.- Experimento nº 3	38
3.2.6.- Parámetros determinados	39
3.2.6.1.- Crecimiento y eficiencia nutritiva del pienso	39
3.2.6.2.- Medidas de intestino e hígado	40
3.2.7.- Determinación de la digestibilidad de la materia seca, almidón, grasa, FND, proteína y aminoácidos, degradabilidad de los β -glucanos y retención de cenizas y minerales	40
3.2.7.1.- Muestras de excretas	41
Obtención y preparación de las muestras:	41
Técnicas analíticas:	41
3.2.7.2.- Muestras de ileon	43
Obtención y preparación de las muestras	43
Técnica analítica	43

3.2.7.3.- Cálculos para determinar los coeficientes de digestibilidad, degradabilidad y retención	44
3.2.8.- Determinación de la energía metabolizable .	44
3.2.9.- Análisis estadístico	46
Datos de crecimiento	46
IV.- RESULTADOS	49
4.1.- Contenido en β -glucanos totales de cultivares de cebadas del Centro y Sur de España	49
4.2.- Composición químico-bromatológica de las cebadas y dietas empleadas en los experimentos	49
4.2.1.- Cebadas	49
4.2.1.1.- Análisis químico-bromatológico . . .	49
4.2.1.2.- Análisis de aminoácidos	53
4.2.2.- Dietas basales	53
4.2.2.1.- Análisis químico-bromatológico	53
4.2.2.2.- Análisis de aminoácidos	56
4.2.2.3.- Análisis de minerales	56
4.3.- Efectos de la adición de bacterias ácido-lácticas y de β -glucanasa sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva	56
4.3.1.- Ganancia en peso	59
4.3.2.- Consumo de pienso	64
4.3.3.- Eficiencia nutritiva	66
4.4.- Medidas viscerales	68

4.4.1.- Longitudes de ileon y ciegos	68
4.4.2.- pH de los contenidos ileal y cecal	72
4.4.3.- Peso del hígado	72
4.5.- Energía metabolizable, digestibilidad de las diversas fracciones y degradabilidad de β -glucanos	72
4.5.1.- Energía metabolizable	76
4.5.2.- Digestibilidad aparente de la PB, almidón, grasa, FND y MS	76
4.5.3.- Degradabilidad de los β -glucanos	76
4.7.- Digestibilidad de los aminoácidos	76
4.7.1.- Efectos sobre la dieta conteniendo cebada Alpha	79
4.7.2.- Efectos sobre la dieta conteniendo cebada Trait d'Union	79
V.- DISCUSION	85
5.1.- Contenido de β -glucanos en cultivares de cebada del Centro y Sur de España	85
5.2.- Composición químico-bromatológica de los cultivares de cebada empleados en los experimentos	87
5.3.- Composición químico-bromatológica de las dietas experimentales	89
5.4.- Efectos de los distintos microorganismos y de la β -glucanasa sobre el crecimiento y eficiencia nutritiva	90

5.4.1.- <i>B. subtilis</i> IP5832	92
5.4.2.- <i>B. cereus</i> CCT953	93
5.4.3.- <i>S. faecium</i> CL15	93
5.4.4.- <i>L. acidophilus</i> NCL84 + <i>S. faecium</i> NCS97 . .	94
5.4.5.- <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	96
5.4.6.- β -glucanasa	97
 5.5.- Influencia del empleo de las BAL y la β -glucanasa sobre las medidas viscerales	 99
 5.6.- Efectos de las BAL y la β -glucanasa sobre la energía metabolizable, la digestibilidad del almidón, grasa, fibra, proteína bruta y aminoácidos, degradabilidad de β -glucanos y retención de cenizas y minerales	 102
5.6.1.- Energía metabolizable	102
5.6.2.- Digestibilidad del almidón	102
5.6.3.- Digestibilidad de la grasa	104
5.6.4.- Digestibilidad de la FND	105
5.6.5.- Degradabilidad de los β -glucanos	106
5.6.6.- Digestibilidad de la proteína bruta y aminoácidos	 109
5.6.7.- Retención de cenizas y minerales	112
 VI.- CONCLUSIONES	 115
 VII.- RESUMEN	 119
 VIII.- BIBLIOGRAFIA	 124

I.- INTRODUCCION

1.- INTRODUCCION

Dentro de la superficie total dedicada en España al cultivo de cereales, la que corresponde a la cebada ocupa el primer lugar con 4.500.000 Ha. De esta superficie cultivada se obtiene una producción que en 1987 alcanzó la cifra de 9.500.000 de Tm.¹

Maíz y cebada son los componentes fundamentales de las dietas actualmente utilizadas. Sin embargo, mientras que en los piensos para pollitas de recria y ponedoras se ha aumentado su inclusión, llegando en la actualidad al 30% de la dieta, en alimentación del broiler este porcentaje es mucho menor.

La conveniencia económica de la sustitución del maíz por cebada en avicultura viene siendo estudiada de una manera especial en los países del norte de Europa y en España. No obstante, diversos inconvenientes hacen que esta sustitución se vea desfavorecida debido a la presencia en la cebada de factores que hacen que su valor nutritivo sea inferior al del maíz. Entre estos, los β -glucanos son los más importantes.

Métodos diversos se han utilizado para incrementar este valor y entre ellos, más recientemente, la adición de β -glucanasa a los piensos para degradar los β -glucanos e inhibir su efecto negativo. Ahora bien, supuesto que la β -glucanasa es una enzima elaborada por determinadas bacterias, parece lógico pensar que

¹ Boletín Mensual de Estadística Agraria, Enero de 1991.

el empleo de estas pueda ser tan eficaz como el de la β -glucanasa.

Con este fin de mejorar el valor nutritivo de la cebada y contribuir al conocimiento de diversas BAL y β -glucanasa como aditivos biológicos o enzimáticos en las dietas para pollos broiler se ha proyectado y desarrollado la investigación que se recoge en este trabajo.

II.- ANTECEDENTES

11.- ANTECEDENTES

2.1.- Valor nutritivo de la cebada

El valor nutritivo de la cebada, como el de cualquier otro alimento vegetal, viene determinado por su composición en sustancias nutritivas y otros componentes que, o carecen de estas propiedades o dificultan en mayor o menor grado la utilización de las primeras.

De acuerdo con lo anterior, tanto la composición química de la cebada como su valor nutritivo no son constantes. Factores genéticos, edáficos, climáticos, abonado, etc. determinan esta variabilidad, de modo que el valor nutritivo de la cebada presenta diferencias notables de unos cultivares a otros. Esta variabilidad se hace notoria igualmente en cada una de las distintas partes en que se divide el grano de cebada: cáscara, pericarpio, testa, germen, aleurona y endospermo (Figura 1).

Supuesto que la composición química no es fiel reflejo del valor nutritivo de este cereal para las aves, es necesario recurrir a investigaciones "in vivo" que permitan adquirir un conocimiento más exacto de su valor nutritivo. Esta discrepancia en el caso de la cebada y de otros cereales denominados fibrosos se debe a la presencia de sustancias diversas, fundamentalmente polisacáridos complejos, que limitan su valor nutritivo. Esta es la razón de que a lo largo de estos antecedentes bibliográficos

intentemos diferenciar por una parte los estudios referidos a la composición químico-bromatológica de la cebada de aquellos otros relacionados con las sustancias consideradas como factores antinutritivos, aún cuando esta denominación no sea del todo correcta.

2.1.1.- Composición químico-bromatológica

Las tablas de composición nutritiva de los alimentos para avicultura o para el ganado, en general, suelen ofrecer valores estándar para las cebadas de 2 y 6 carreras, sin tener en cuenta que estos valores medios presentan alta variabilidad según múltiples condicionantes, lo que dificulta la elección de aquellos datos que más puedan aproximarse al cultivar disponible en un momento dado. La variedad de cebada, las condiciones climáticas y el grado de abonado son algunos factores que ampliamente hacen fluctuar los valores medios.

Por tanto, y supuesto que hemos de referirnos obligadamente a los valores estándar de composición, vamos a intentar recoger los más representativos. De acuerdo con el procedimiento de Weende se han venido aceptando los siguientes valores:

Humedad	13 %
Fibra bruta	5 %
Proteína bruta	10 %
M.E.L.N.	67.5%
Extracto etéreo	2 %
Cenizas	2.5%

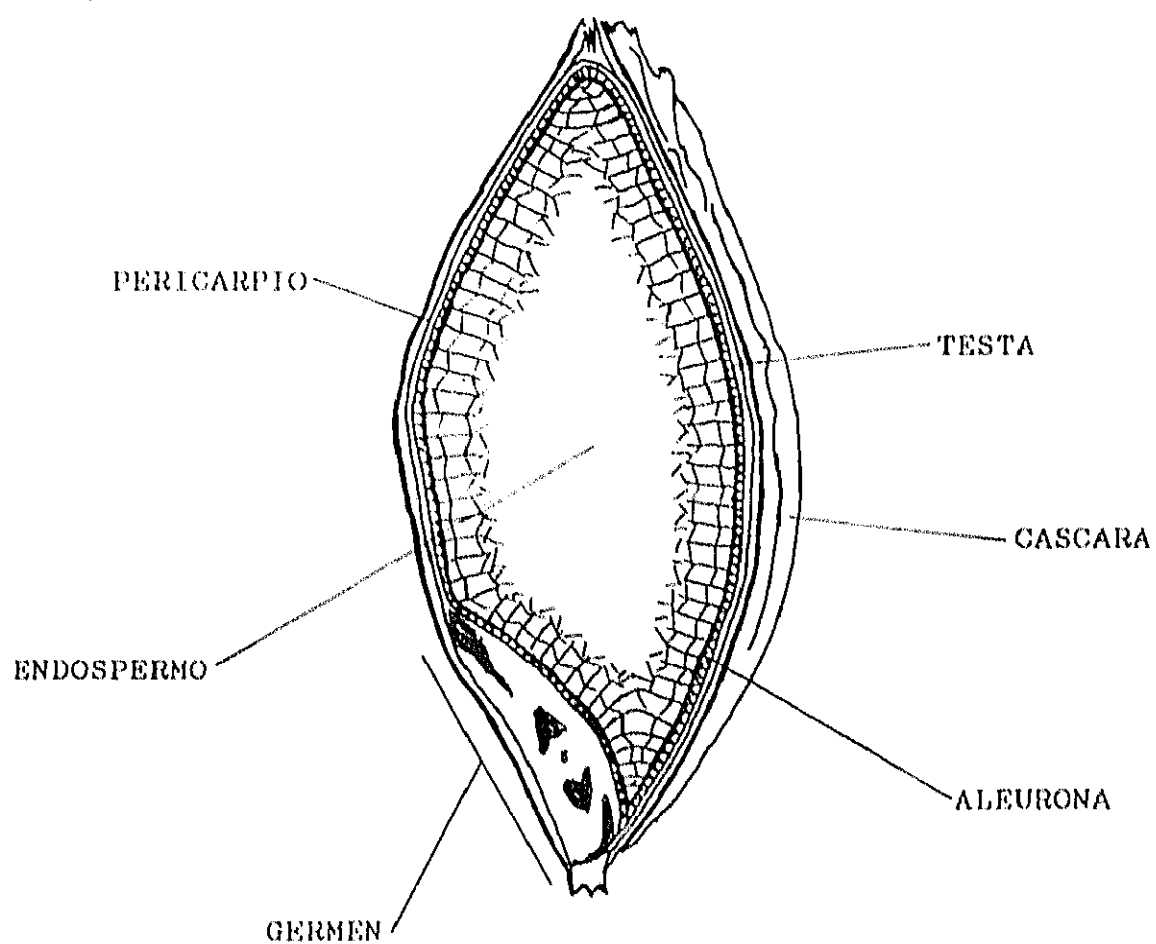


Figura 1 Esquema simplificado del grano de cebada mostrando las principales formaciones celulares.

Como puede verse, no se tienen en cuenta sustancias nutritivas esenciales actualmente para una correcta formulación ni se indica la presencia de sustancias antinutritivas.

Bach-Knudsen y Eggum tienen en cuenta los componentes nutritivos y no nutritivos, publicando en 1984 una tabla de composición más exacta. Más actual es la tabla de composición de materias primas para piensos, del INRA en la que se recogen ya los datos para cebadas de 2 y 6 carreras, (Tabla 1).

Si de la composición química en términos genéricos dirigimos este estudio bibliográfico a cada una de las fracciones nutritivas más importantes del grano de la cebada, es indispensable referirse a las siguientes sustancias:

2.1.1.1.- Almidón

La concentración total de almidón en el grano entero de cebada, expresado en materia seca se aproxima al 57,6% para la cebada de dos carreras y al 54,2% para la de seis (De Blas et al, 1985). Los azúcares representan el 2.8 y 2.9% respectivamente. Por lo tanto, el contenido en carbohidratos es más elevado en las cebadas de dos carreras. Por el contrario, estas cebadas tienen porcentajes menores de proteína y fibra.

El endospermo, principal órgano de reserva energética del embrión contiene el 75 a 85% del almidón, que se encuentra en forma de gránulos (Bach-Knudsen y Eggum, 1984).

Tabla 1 Composición en principios inmediatos de cebadas de 2 y de 6 carreras (% MS)

	2	6
Humedad	14	14
Almidón	51	58
Proteína bruta	10	9,2
Grasa bruta	2	1,8
Fibra bruta	4,4	5,6
F N D	5	18
F A D	5,5	6,5
Cenizas	2,3	2,3
Fósforo disponible	0,17	0,17
Energía bruta, (Kcal/g)	3780	3770

Fuente: Bourdon et al., INRA (1984).

La principal característica que define la constitución y estabilidad de los gránulos de almidón es la proporción en que se encuentran la amilosa y la amilopectina (Morán, 1982) de la que depende la mayor o menor degradabilidad del gránulo por las amilasas digestivas del ave. Así, cuando los almidones tienen alta proporción de amilosa son menos digestibles. Esto se debe a que la amilosa está estructurada en una doble hélice que presenta baja solubilidad y, por lo tanto, difícil de hidrolizarse. Los gránulos de almidón que provienen de cebadas con alto contenido en amilopectina (almidón céreo) son más susceptibles de ser atacados por las alfa-amilasas que los provenientes de cebadas normales, ya que la amilopectina, aún siendo un polímero de peso molecular elevado, tiene una mayor solubilidad (Leach y Schoch, 1961; Goering y Eslick, 1976).

La proporción entre amilosa y amilopectina del almidón de los cereales es altamente variable pero dependiente de la variedad y del tamaño del gránulo. En líneas generales, en la mayoría de las especies y variedades de cereales se establece una relación amilosa:amilopectina de 25 a 75. Sin embargo podemos tener almidones amilo (aproximadamente 75% de amilosa) o almidones céreos (aproximadamente 99% de amilopectina) tanto en maíz como en cebada, (Moran, 1982). Wolf et al. (1970), analizando el contenido en amilosa de diferentes variedades de maíz, vieron que este era en promedio un 62% del almidón de los maíces tipo amilo y un 25 a un 30% de los maíces normales. Torp (1980) siguiendo la misma técnica determinó que en valor medio, un 31% del almidón de 20 variedades de cebadas de primavera era amilosa.

El almidón de los tubérculos y legumbres tiene mayor proporción de amilosa que el de los cereales, normalmente un 30% a 35% frente a un 25% (Bhatty y Slinkard, 1979; Lorentz, 1979; Chung y Hadziyef, 1980). Esto, junto al mayor tamaño y estabilidad del gránulo de los tubérculos y legumbres (Moran, 1982), parece justificar la menor digestibilidad del almidón de los primeros frente a los cereales.

2.1.1.2.- Lípidos y ácidos grasos

Una de las razones del menor valor energético de la cebada con relación al maíz se debe a que el contenido de lípidos en la cebada, similar al del trigo, supone aproximadamente el 50% del maíz.

Sin embargo, aún siendo esta diferencia importante bajo el punto de vista de la nutrición, tiene mayor interés la menor concentración de ácido linoleico en el grano de cebada (Tabla 2). Este hecho ha de tenerse en cuenta de manera especial en la alimentación de ponedoras, en cuyas dietas los cereales son la fuente más importante de este ácido graso.

La relación energía-lípidos en la cebada ha preocupado seriamente a algunos investigadores. Así, Bhatty et al. (1974, 1975, 1979) sugirieron que el valor de energía de la cebada podía incrementarse sustancialmente si fuera posible aumentar la fracción lipídica del grano del 2% al 3% o, incluso al 4%, (Bhatty y Rossnagel, 1980, Bhatty, 1982). Este aumento del contenido en lípidos aproximaría el valor energético de la cebada al del maíz, mejorando la utilización nutritiva de

Tabla 2 Contenido en lípidos y ácido linoleico del maíz, cebada y trigo, (% MS)

	Lípidos	Ac. linoleico
Maíz	4 - 6	1,5 - 2,5
Cebada	2,2	1
Trigo	2,2	1

Fuente: De Blas, González y Argamenteoría (1987).

aquella. En este sentido, algunos cultivares utilizados en Europa y América se aproximan e incluso parecen superar el 4% de lípidos (Munck, 1976; Tallberg, 1977; Welch, 1978; Shewry et al., 1979).

De acuerdo con los análisis de Bhatti (1980, 1982), la composición en ácidos grasos de la cebada varía de unos cultivares a otros. Los lípidos neutros son los más abundantes, y de estos, los triglicéridos. El ácido graso presente en mayor cantidad es el linoleico, con valores del 51 al 60%. En segundo y tercer lugar se sitúan el palmítico y el oleico. Como corresponde a una grasa vegetal, el porcentaje de ácidos grasos insaturados es mayor que el de los saturados.

2.1.1.3.- Proteínas y aminoácidos

Novacek y Pedersen (1967) obtuvieron, para la proteína bruta de las diferentes partes del grano de cebada, los valores que recoge la Tabla 3. La proteína más abundante de cebada, la hordeína, es una prolamina y constituye hasta el 50% de la proteína total del endospermo del grano maduro (Shewry et al. 1979).

Como ocurre con otros componentes o sustancias nutritivas, la proteína en la cebada no es un valor constante. Así, El-Negoumy et al. (1979) encontraron en 23 cultivares diferentes de cebada que la proporción de proteína ($N \times 6,25$, corregido para N no proteico), sobre sustancia seca, variaba de un 13% (cv. Unitan) a un 20% (cv. Hiproly).

Tabla 3 Contenido de las diferentes partes del grano de cebada en
proteína bruta (% MS)

	Porcentaje
Grano entero	13,75
Endospermo	18,76
Germen	35,69
Pericarpio	3,89
Aleurona	21,46
Cascarilla	1,81

Fuente: Novacek y Petersen (1967).

Más recientemente, en España, García de la Calera et al. (1988a y b) analizando la proteína bruta de 140 muestras de cebada correspondientes a la cosecha de 1987, obtuvieron valores medios de 10.9% para la cebada cervecera y de 11.4% para la cebada caballar.

Con relación a los aminoácidos, la proteína del grano de cebada, como sucede en los cereales en general, es pobre en lisina (Mitchell y Block, 1946), constituyendo uno de los factores limitantes de su utilización en alimentación de aves y cerdos. Este problema ha llevado a los investigadores al desarrollo y obtención de cultivares con alto contenido en lisina: Hiproly, Riso 1508. Aminoácidos limitantes secundarios son los azufrados y el triptófano (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1984).

Los cultivares ricos en lisina, al igual que en el maíz y en el trigo, contienen menos proteína total. Ello se debe a que, aún siendo más alto el contenido en lisina, las prolaminas se encuentran en menor proporción. Igualmente inferior es el contenido de alanina, arginina, ácido glutámico y cistina en la molécula proteica (El-Negoumy et al., 1979).

La digestibilidad real de los aminoácidos de la cebada en aves se sitúa entre el 80,1% y el 90,7% (Rhône-Poulenc, 1989), siendo un 10% - 12% inferior a la del maíz.

2.1.1.4.- Fibra

Si bien el concepto de fibra de un alimento ha experimentado cambios más o menos profundos en nutrición humana y animal, lo cierto es que, supuesta la escasa digestibilidad de la fracción fibra para las aves, todavía se sigue utilizando el término de fibra bruta. De acuerdo con esto, y según los diversos autores, los valores comunes para las cebadas españolas son:

- 6,05% (González et al., 1969).
- 4,7% y 7,5% para cebadas de 2 y de 6 carreras respectivamente (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1984).
- 6,09% y 4,19% para cebadas de invierno y de primavera (Pérez-Vendrell et al., 1987).
- 5,35% y 6,67% para cebadas cervecera (2 carreras) y caballar (6 carreras) (García de la Calera et al, 1988a y b).

Actualmente, de acuerdo con el concepto de Trowell et al. (1976), la fibra alimentaria está definida químicamente como la suma de los polisacáridos no amiláceos y la lignina. Theander y Aman (1979) hacen extensivo el termino fibra alimentaria a otras sustancias no digestibles y asociadas a las paredes celulares como son la cutina, ceras, polifenoles diferentes a la lignina, proteínas de la pared celular. Siguiendo este concepto, Salomonsson et al. (1980) diferencian los componentes de la fibra de la cebada de acuerdo con lo expuesto en la Tabla 4 y referido a 11 cultivares de cebada del norte de Europa. La cascarilla supone aproximadamente el 10,2% del total del grano.

Tabla 4 Contenido en fibra de las diferentes partes del grano de cebada
(% MS)

	Grano entero	Descasca- rillado	Cascarilla
Polisacáridos no amiláceos	20,5	13,4	7,1
Lignina	3,4	1,3	2,1

Fuente: Salomonsson et al. (1980).

2.1.2.- Energía del grano de cebada

La utilización básica de los cereales en alimentación del ganado es como fuente de energía que, en el caso de las aves, se mide en términos de energía metabolizable.

El valor medio de energía bruta es aproximadamente de 3780 Kcal/kg para la cebada de dos carreras y 3770 Kcal/kg para la cebada de 6 carreras (Bourdon et al. 1984). Los balances energéticos en aves determinan que, por cada kg de cebada ingerida, hay un aprovechamiento de 2900 a 3200 Kcal, definidas como energía metabolizable. El valor energético del maíz, determinado por este mismo procedimiento, muestra unos valores promedio de un 25% a un 30% mayores que la cebada. La explicación a este menor contenido de energía metabolizable de la cebada, que está en relación con su densidad, es la alta proporción de fibra en el pericarpio y en la cáscara, menor contenido en grasa y presencia de sustancias indigestibles, β -glucanos del endospermo, que reducen la utilización nutritiva de la cebada por parte de las aves.

2.2.- Factores que limitan el valor nutritivo

2.2.1.- β -glucanos

La pared de las células que forman el endospermo del grano de la cebada está constituida en su mayor parte por unos

polímeros complejos, bioquímicamente denominados $\beta(1-3)$, $(1-4)$ -D-glucanos (Preece y MacKenzie, 1952).

El análisis de la estructura fina de estos polímeros, de acuerdo con los trabajos iniciales de Fleming y Kawakami (1977), ha mostrado que están formados por moléculas de glucosa unidas linealmente por enlaces tipo β 1,3 y 1,4. Puede, pues, afirmarse que la distribución de los β -glucanos queda restringida a las paredes del endospermo, en las que está formando el 75% del total de los componentes (Forrest y Wainwright, 1977). El resto está constituido por arabinoxilanos, polímeros de manosa, proteína y compuestos fenólicos (Fincher, 1976).

El contenido total de β -glucanos en la cebada es muy variable, con cifras que oscilan entre el 1.6% y el 8.3% del total del grano, referido en sustancia seca (Bendelow, 1975; Anderson et al., 1978; Aastrup, 1979a y b; Newman y Newman, 1988).

2.2.1.1.- Estructura de los β -glucanos

Si bien a finales del siglo pasado O'Sullivan (1822), al hablar de los diferentes componentes del grano de los cereales, se refería a β -amilasas y Piratzky (1936) hacía referencia a polisacáridos no amilosos, liberados de la malta durante el proceso de elaboración de la cerveza, fueron Preece y MacKenzie (1952) los que realizaron por primera vez la extracción e identificación de los β -glucanos.

Como indicábamos anteriormente, la estructura intrínseca de estos polímeros está formada por unidades de glucosa unidas linealmente en enlaces tipo β , el 70% de cuales es en la forma 1-4 y el 30% restante en la forma 1-3 (Bathgate et al., 1974; Ballance y Meredith, 1976; Fleming y Kawakami, 1977; Woodward et al., 1983b).

La disposición de estos enlaces en la cadena lineal no está plenamente esclarecida, proponiéndose en la actualidad tres posibles formas de organización (Hesselman, 1983):

- a) Las uniones $\beta(1,3)$ se disponen aisladas y entre ellas, de forma alterna, dos o tres uniones $\beta(1,4)$.
- b) Disposición al azar, alternando las uniones $\beta(1,3)$ con las $\beta(1,4)$.
- c) Agrupación de enlaces tipo $\beta(1,4)$ a la que siguen enlaces $\beta(1,3)$, repitiéndose esta organización de forma regular.

Autores como Fleming y Manners (1966), Igarashi y Sakurai (1966), Bathgate et al. (1974) y Fleming y Kawakami (1977) demuestran la existencia de secuencias con enlaces $\beta(1,3)$ adyacentes, mientras que Woodward et al. (1983a) y Staudte et al. (1983) no han encontrado esta organización, observando en el 90% de los casos la presencia de unidades de dos o tres enlaces $\beta(1,4)$ entre enlaces $\beta(1,3)$.

2.2.1.2.- Solubilidad de los β -glucanos

Perlin y Suzuki (1962) ya explicaron que la alta solubilidad de estos polímeros se debe a que, al no ser una cadena homogénea

sino que existen dos tipos de enlaces β , la molécula lineal no va a poder replegarse en su totalidad y dándose la posibilidad de establecer puentes de hidrógeno con las moléculas de agua.

Aastrup (1979a) encontró alta variabilidad entre el cociente de β -glucanos solubles e insolubles a pH 1.5 o en agua. Un 7% a un 37% de estas moléculas es soluble en esas condiciones a temperatura ambiente, aumentando la solubilidad si se eleva la temperatura, pues hay mayor viscosidad en los extractos (Palmer, 1973; Fleming y Kawakami, 1977; Aastrup, 1979a). Este hecho se explica porque aumenta la presencia de uniones β -1,3 y por lo tanto la accesibilidad del agua para interaccionar con la molécula es mayor.

2.2.1.3.- Viscosidad de los extractos de β -glucanos

Burnett (1966) fue uno de los primeros autores en relacionar el menor valor nutritivo de la cebada con la viscosidad de extractos de contenido intestinal en pollos. Esta viscosidad la atribuyó, además de los β -glucanos, a las hemicelulosas presentes en el grano de cebada.

En la industria cervecera, Scott (1972) relacionó la viscosidad de la malta y el contenido en β -glucanos de esta, hecho también comprobado por Barrett et al. (1973). Aastrup (1979a) estudió en detalle la relación entre el contenido en β -glucanos de un extracto ácido de harina de cebada y la viscosidad que presentaba. La correlación calculada fue del orden del 99%.

Smith et al. (1980a y b), atribuyen un pequeño porcentaje de esta viscosidad a la solubilización del almidón del grano.

White et al. (1983) observaron que la alta viscosidad que se producía en el contenido del intestino de pollos alimentados con una dieta de maíz adicionada con un 2% de hidroxietilcelulosa (11,2 frente a 1,67) disminuía drásticamente cuando se añadía un preparado de celulasa a la ración.

2.2.1.4.- Factores que afectan al contenido en β -glucanos

Estos son de dos clases: los genéticos y los ambientales (Molina-Cano y Conde, 1982, Hesselman, 1983; Henry, 1986). El tipo de cultivar (factor genético) parece tener más influencia en la viscosidad que los factores ambientales o las condiciones de cosecha (Schuster et al., 1967). Estos autores también vieron que, para un mismo cultivar, las cebadas desarrolladas en condiciones de calor y sequedad tenían más β -glucanos y arabinoxilanos que las crecidas en ambiente frío y humedad.

Otros autores que corroboraron variación en la viscosidad como influencia del tipo de cultivar, son Ewertsson (1977) y Newman y Newman (1987). Estos últimos vieron que isotipos diferentes de cebadas tenían diferente viscosidad debido a una variabilidad en el tipo de β -glucanos y que esto podía ser consecuencia de que unas estructuras fueran más soluble que otras.

2.3.- Métodos para mejorar el valor nutritivo de la cebada

A lo largo de las tres últimas décadas, se han realizado investigaciones diversas dirigidas a suprimir o paliar los efectos de los factores que limitan el valor nutritivo de la cebada. Estos métodos pueden quedar enmarcadas en los siguientes apartados:

2.3.1.- Tratamientos físico-químicos

En la década de los años 50 se iniciaron las investigaciones referidas a tratamientos hídricos e hidrotérmicos, tanto sobre el grano entero de la cebada como sobre el grano descascarillado. De acuerdo con diversos autores (Fry et al., 1957, 1958; Willingham et al., 1959; Leong et al., 1962; Novacek y Pedersen, 1967), el tratamiento hídrico parece efectivo como medio de aumentar el valor nutritivo de la cebada. Se ha comprobado igualmente que cuando se separan las diversas fracciones del grano y se someten a tratamiento hídrico aisladamente, los niveles de energía metabolizable se ven incrementados en su conjunto. Comprobando la acción del agua sobre el endospermo, se observó una mejora no significativa.

Junto al agua, se ha ensayado el tratamiento con solución ácida (ácido clorhídrico 0,1N). Los resultados sin embargo no son superiores (Adams y Naber, 1969). Posteriormente, se recurrió al tratamiento térmico como medio de mejorar el valor nutritivo de este cereal, con resultados similares al tratamiento hídrico (Herstad y McNab, 1975; Ghol et al., 1978).

2.3.2.- Empleo de enzimas

La utilización de enzimas como medio de mejorar el valor nutritivo de la cebada, se remonta a finales de los años 50 cuando Jensen et al. (1957), Berg et al. (1959) y Willingham et al. (1959) observaron que la adición de enzimas a una dieta en la que se había sustituido el maíz por cebada, mejoraba la ganancia en peso y el índice de transformación de los pollos. Sin embargo, ya desde el principio (Laerdal et al., 1959; Willingham et al., 1960) se comprobó que este efecto positivo no siempre era constante y que guardaba relación con la procedencia de la cebada o la zona geográfica donde se había cultivado. A su vez, estas diferencias dependían de la variedad de cebada y, lógicamente, de su concentración en β -glucanos (Gohl et al., 1978). El mecanismo de acción de los complejos enzimáticos que se han utilizado, ya sean de naturaleza bacteriana o fúngica, se establece por desdoblamiento de los β -glucanos.

Por otra parte, y supuesto que la digestibilidad del almidón de los cereales en las aves es muy elevada (Longstaff y McNabb, 1986; Tortuero et al., 1989) parece ser que la utilización de enzimas, de acuerdo con las investigaciones de Potter et al. (1968) y de Herstad y McNab (1975) mejora los valores de energía metabolizable de la cebada, posiblemente por aumento en la digestibilidad de la proteína y de la grasa.

Más recientemente, Hesselman et al. (1981) han comprobado el efecto de la β -glucanasa sobre cebadas cosechadas en diferentes grados de madurez y almacenadas en anaerobiosis, admitiendo

estos autores que el mecanismo de acción de la β -glucanasa, así como del tratamiento hídrico, estaría relacionado con una mayor solubilización de las paredes celulares y de los componentes altamente viscosos.

A pesar de que, como hemos indicado, la digestibilidad del almidón en las aves es muy elevada, tanto De Silva et al. (1983) como Classen et al. (1985) se inclinan a aceptar que la mayor solubilización de los gránulos de almidón facilitaría el ataque de las amilasas del aparato digestivo. Además de este efecto sobre el almidón, recientemente Petterson et al. (1990) han encontrado que en cebadas con bajo nivel de proteína y pobre valor biológico, la adición de preparados enzimáticos conteniendo β -glucanasa y arabinoxylanasa mejora la utilización de esta proteína y el crecimiento de los pollos, por lo que estiman la posibilidad de reducir el nivel de proteína en las dietas con cebada suplementadas con enzimas conteniendo β -glucanasas.

2.3.3.- Irradiación

Classen et al. (1985), utilizando cebadas desnudas irradiadas con rayos gamma en alimentación de pollos, mejoraron el crecimiento de las aves, el índice de transformación y la absorción de grasa y de almidón. Esta radiación parece ser capaz de hidrolizar los enlaces alfa (1-4) glucosídicos del almidón y β (1-3),(1-4) glucosídicos de los β -glucanos (Urbain, 1984; McArthur y D'Appolonia, 1984) comprobado al hacer medidas de amiloviscosidad o de viscosidad de preparaciones puras de β -glucanos.

Sin embargo, esta técnica, aún cuando parece ser eficaz como medio de mejora del valor nutritivo de la cebada (Classen et al., 1985), es bastante costosa y compleja si se compara con la adición de enzimas al pienso. Por ello no se ha extendido su utilización, siendo su viabilidad actual baja (Bhatty, 1986).

2.3.4.- Uso de antibióticos

Thomas et al. (1961) con pollos White Olympian, alimentados durante 14 días con una dieta de cebada adicionada con antibiótico (tilosina, bacitracina, penicilina u oxitetraciclina) obtuvieron ciertas mejoras en el peso de las aves tratadas frente al control.

Moran y McGinnis (1965), empleando pavipollos alimentados con piensos en base a cebada, encontraron mayores valores de producción en los grupos en los que se había adicionado antibiótico en la dieta (oleandomicina, bacitracina, estreptomycin).

Classen et al. (1985) adicionaron lincomicina a dietas de cebada desnuda en pollos tipo broiler, obteniendo incrementos del peso de las aves y mayor digestibilidad de la grasa. La explicación que estos autores daban a la mejora observada resaltaba la importancia del tipo de flora intestinal en la actividad digestiva del ave.

2.3.5.- Obtención de nuevas variedades

En este aspecto, las investigaciones se han dirigido en un doble sentido: a) obtención de cebadas con mayor cantidad de proteína y lisina, cuyo ejemplo más representativo es el cultivar hiproly y b) consecución de cebadas denominadas desnudas.

Algunos de los cultivares de reciente creación contienen mayor cantidad de proteína total y de lisina, como es el caso de hiproly (Munck et al., 1969; Hagberg y Karlsson, 1969) con los que se obtienen valores más altos de digestibilidad, tanto en ratas (Munck et al., 1969; Newman et al., 1974) como en aves y cerdos (Newman et al., 1973; Moss et al., 1974, 1975).

Thomke et al. (1978) han demostrado que las cebada obtenidas de cruces entre cultivares locales y líneas hiproly igualmente presentaban un valor nutritivo superior. La explicación encontraría en una mayor digestibilidad de los aminoácidos esenciales y/o una más equilibrada composición en aminoácidos de las líneas hiproly.

Classen et al. (1985) compararon la utilización nutritiva de diversos tipos de cebadas en piensos de pollos para carne: con cascarrilla o desnuda y de 6 o de 2 carreras. Ensayando cebada desnuda y con cascarrilla, la primera presentaba mayor energía metabolizable, sin embargo deprimía exageradamente el crecimiento, más acusado cuanto mayor era el porcentaje de sustitución. Estos resultados, similares a los encontrados por Anderson et al. (1961) y Coon et al. (1979), fueron razonados por Wong (1978) y Fox (1981) como debidos a un mayor nivel de β -glucanos en las cebadas desnudas.

Newman y Newman (1988) han valorado biológicamente una nueva variedad de cebada desnuda denominada Franubet, encontrando que en algunos experimentos con pollos, los resultados de producción igualaron los del maíz. Varias causas, según los autores, justificarían los resultados: ausencia de factores antinutritivos, presencia de β -glucanos de diferente estructura (el contenido de estos era similar al de otras cebadas), nivel de fragmentación de los gránulos de almidón, o una combinación de estos factores que darían a este cultivar una mayor biodisponibilidad de energía.

2.4.- Utilización de bacterias ácido-lácticas como estimulantes del valor nutritivo de los alimentos

En la década de los años 60 se iniciaron las investigaciones dirigidas al conocimiento de los efectos derivados del empleo de microorganismos, lactobacilos principalmente, sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva del alimento en los animales jóvenes. En la Tabla 5 se esquematizan los trabajos revisados acerca de la utilización de estos aditivos biológicos en la alimentación de pollos.

De la observación de la tabla se deduce que la mayor parte de las investigaciones se han concretado a la determinación de los efectos de las bacterias ácido-lácticas sobre la ganancia en peso y el índice de transformación, sin tener en cuenta la influencia de estos microorganismos sobre la utilización de las sustancias nutritivas de los alimentos.

Entre los pocos autores cuyos trabajos nos han sido conocidos, podemos citar los estudios realizados por Tortuero en pollos (1973) y los de Collington et al. en cerdos (1990). El primero de estos autores demostró que la adición de lactobacilos al agua de bebida, en días alternos desde el nacimiento de los pollos, incrementaba la digestibilidad de la grasa de la dieta. Los segundos han puesto de manifiesto que la adición de diversas cepas de *Lactobacillus plantarum* a la alimentación posdestete del cerdo aumentaba la actividad de la sucrasa, lactasa y tripeptidasa intestinales.

Tabla 5 Utilización de bacterias ácido-lácticas como promotores del crecimiento en pollos

AUTOR	AÑO	EDAD	CULTIVO	DIETA	RESULTADOS
Tortuero	1973	0-11 días	<i>L. acidophilus</i> en agua	maíz-soja	mejora en crecimiento y en digestibilidad de la grasa a los 4-11 días
Fuller	1977	0-7 días	<i>Lactobacilos</i> inoculados	comercial	inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> en buche
Burkett et al.	1977	0-8 sem.	<i>Lactobacilos</i>	comercial	mejora de eficiencia a las 4 sem. pero no a las 8
Pilworth y Day	1978	-	<i>Lactobacilos</i>	maíz	mejoras en el crecimiento y eficiencia incluso con bajo nivel de metionina+cistina
Couch	1978	-	<i>Lactobacilos</i>	comercial	mejora en peso y eficiencia nutritiva
Crawford	1979	-	<i>Lactobacilos</i>	maíz-soja	mejora en la ganancia y eficiencia a las 8 sem.
Watkins et al.	1982	-	<i>L. acidophilus</i>	comercial	inoculación de <i>E. coli</i> patógena y reducción de la mortandad al 0%, supervivencia de los <i>Lactobacilos</i> en el intestino
Watkins y Kratzer	1983	0-3 sem.	<i>Lactobacilos</i>	comercial	algunas dosis reducían el crecimiento; menor nº de <i>E. coli</i>
Buenrostro y Kratzer	1983	-	<i>Lactobacilos</i> inoculados	comercial	peor crecimiento, déficit de biotina en hígado
Watkins y Kratzer	1984	0-7 sem.	<i>Lactobacilos</i> en agua	comercial	exp 1) no diferencia en peso de vísceras, intestinos, pH buche y duodeno exp 2) mayor nº de <i>Lactobacilos</i> , no hay menor biotina en hígado exp 3) no difiere el peso, eficiencia o nº de coliformes
Meluzzi et al.	1986	0-4 sem.	<i>S. lactis</i> + <i>S. thermophilus</i> bifidobacterias	comercial "	mayor peso y eficiencia, inhibición de <i>E. coli</i> patógena, no hubo colonización ni mejoras
Fettoro y Miles	1987	0-3 sem.	<i>Lactobacilos</i>	maíz-soja	no hay diferencias
Tortuero et al.	1989	5-8 sem.	<i>L. acidophilus</i> <i>S. faecium</i> <i>S. faecium</i>	maíz-soja + habinosa "	mejoras en peso y eficiencia; no hay diferencias en peso de órganos o hemoglobina; reducción de clostridios en ciegos no hay diferencias entre grupos
Owings et al.	1990	0-7 sem.	<i>S. faecium</i> en pienso o agua	maíz-soja	a) no hay diferencias b) mayor peso a los 44 días y mayor nº de <i>S. faecium</i> en ciegos
Tortuero et al.	1990	0-5 sem.	<i>B. cereus</i>	cobada-soja	28 días: no hay diferencias en el peso pero sí en el consumo; menor longitud de ileon y ciegos y menor nº de anaerobios totales

2.5.- Objetivos del presente trabajo de investigación

Supuesta la hipótesis de que determinados microorganismos poseen enzimas capaces de degradar polisacáridos complejos, y que la utilización de β -glucanasa en los alimentos para pollos es eficaz como medio de mejorar el valor nutritivo de la cebada, el planteamiento general de la parte experimental de nuestro trabajo pretende alcanzar los siguientes objetivos:

- 1º.- Conocimiento del contenido en β -glucanos de cultivares de cebada normalmente cosechadas en el Centro y Sur de España.
- 2º.- Estudio de la acción de diferentes BAL (*B. subtilis*, *B. cereus*, *S. faecium*, la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* y la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum*) y β -glucanasa sobre los índices de crecimiento y eficiencia nutritiva de un pienso conteniendo cebada como único cereal en pollos, tipo broiler, de 0 a 4 semanas de edad.
- 3º.- Determinación de las variaciones en el desarrollo del intestino y del hígado de las aves a las 4 semanas de edad como efecto del tratamiento con las BAL y la β -glucanasa.
- 4º.- Posibilidades de mejorar la EM, digestibilidad del almidón, grasa, FND, PB y aminoácidos, así como la retención de cenizas y minerales, a la edad y con los tratamientos ya indicados.
- 5º.- Comprobar la capacidad de degradación de los β -glucanos de la cebada a nivel intestinal como resultado del empleo de las BAL y la β -glucanasa a la edad señalada anteriormente.

III.- MATERIAL Y METODOS

III.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- Determinación del contenido en β -glucanos de cebadas de las zonas Centro y Sur de España

Se han analizado un total de 13 cultivares de cebadas (26 muestras), cosechados en el año 1988. De ellos, 4 eran cultivares de invierno y 5 de primavera, de acuerdo con lo indicado por el Instituto de Semillas y Plantas de Vivero. La metodología seguida para la determinación de los β -glucanos totales ha sido la descrita por Aman y Graham (1987).

3.2.- Investigaciones en pollos

3.2.1.- Aves

En las tres pruebas experimentales realizadas se ha empleado un total de 520 pollos, sexados machos, de la estirpe Cobb's y de un día de edad. Los pollos se pesaron individualmente a su llegada y se distribuyeron al azar en grupos de peso semejante con diferencias inferiores a los 2 gramos, eliminándose los animales de pesos extremos.

3.2.2.- Alojamiento y manejo

En todos los experimentos, los pollos se alojaron en baterías provistas de resistencias eléctricas como sistema de calefacción. Las condiciones de temperatura y humedad se mantuvieron de acuerdo con las normas aconsejadas para el

crecimiento de las aves. La mortalidad se mantuvo en niveles comunes a esta estirpe, no observándose enfermedades o alteraciones patológicas durante el desarrollo de las experimentos.

Durante todo el periodo experimental se adoptó el sistema de iluminación continuada. El alimento, en forma de harina, y el agua de bebida se administraron "ad libitum", utilizándose agua desionizada, exenta de cloro, con el fin de evitar la acción bactericida de este sobre los microorganismos administrados.

3.2.3.- Dietas

En los distintos experimentos se utilizó como testigo una dieta basal cebada-soja. En los dos primeros, además se administró una dieta de referencia maíz-soja. La composición de ambas, isoenergéticas y formuladas de acuerdo con las necesidades en los diferentes nutrientes, según las recomendaciones del INRA (LeClercq et al., 1984) y del NRC (1984), está especificada en la Tabla 6. Las relaciones EM:metionina+cistina y EM:lisina se han mantenido muy próximas a los valores recomendados. Asimismo, los piensos carecían de antibióticos, normalmente empleados a dosis subterapéuticas.

En el experimento nº 1 se utilizó cebada Alfa (cultivar de 2 carreras, de ciclo largo y de invierno) cuyo contenido analizado en β -glucanos fue del 3,23%, y en los restantes experimentos se utilizó cebada Trait d'Union (cultivar de 2 carreras, de ciclo corto y de primavera) con mayor proporción de β -glucanos, 4,35%. Ambos cultivares provenían de la provincia de Soria y fueron cosechados en el año 1988.

Tabla 6 Composición centesimal de las dietas referencia y basal utilizadas en los experimentos

	Referencia	Basal
Ingredientes, % SF		
Harina de maíz	63,00	
Harina de cebada		59,25
Harina de soja, 44%	29,60	27,90
Manteca de cerdo	1,55	7,15
Harina de carne, 40-50%	4,00	4,00
Fosfato bicálcico	0,85	0,80
Carbonato cálcico	0,35	0,25
Sal	0,25	0,20
DL-Metionina	0,20	0,20
Corrector ¹	0,20	0,20
Análisis calculado, % SS		
E. metabolizable, kcal/kg	3397	3376
Proteína bruta, N x 6,25	22,43	22,72
Calcio	0,92	0,89
Fósforo disponible	0,52	0,51
Metionina	0,58	0,57
Metionina + Cistina	1,00	0,97
Lisina	1,27	1,26

- 1 Suplementando (kg de pienso): 10.000 UI vita, 2.000 UI vitD3, 8mg vitE, 2mg vitK3, 2mg vitB1, 5mg vitB2, 2mg vitB6, 12ppm vitB12, 0,5mg ac. fólico, 25mg ac. nicotínico, 10mg ac. pantoténico, 500mg cloruro de colina, 3mg cobre, 30mg hierro, 1,2mg hierro, 70mg manganeso, 40mg cinc, 125ppm antioxidante.

3.2.4.- Microorganismos y enzima empleados

- Concentrado desecado de *Bacillus subtilis* cepa IP5832, con una concentración mínima de 10^9 esporas viables por gramo de producto.

- Concentrado liofilizado de *Bacillus cereus* cepa CCT953, en una concentración mínima de 10^{10} células viables por gramo.

- Concentrado de *Streptococcus faecium* cepa CL15, mantenido en medio láctico deshidratado con una concentración mínima de 5×10^9 cfu por gramo de producto.

- Mezcla concentrada, liofilizada y microencapsulada de *Lactobacillus acidophilus*, cepa NCL84 y *Streptococcus faecium* cepa NCS97 con una concentración mínima de cada especie de 5×10^9 cfu por gramo de producto.

- Mezcla de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, obtenida a partir de la liofilización de un cultivo en medio lácteo, con una concentración aproximada de $7,7 \times 10^8$ células viables por gramo de producto.

- Preparado desecado y concentrado de β -glucanasa en polvo, obtenido a partir del cultivo del hongo *Aspergillus oryzae*, y con una actividad de 10 unidades por gramo de producto.

Los anteriores productos han sido cedidos por casas comerciales o, como en el caso del *Bacillus subtilis* (exp. 1 y 2) y de la mezcla de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium bifidum* (exp. 3), comprados directamente en el comercio. En cualquier caso, los objetivos del presente trabajo de investigación han sido siempre científicos y desligados de cualquier ensayo comercial.

3.2.5.- Objetivos específicos y diseño experimental

En todas las pruebas experimentales se ha seguido un diseño de bloques completamente aleatorios, de acuerdo con la metodología descrita por Steel y Torrie (1980). El modelo utilizado es factorial, con la dieta como factor y distribuyendo los tratamientos en 4 bloques. Este diseño, así como los objetivos específicos para los diferentes experimentos puede concretarse de la manera siguiente:

3.2.5.1.- Experimento nº 1:

Objetivo: Determinar los efectos de los concentrados de *B. subtilis*, de *L. acidophilus* + *S. faecium* o de la β -glucanasa sobre el crecimiento y desarrollo intestinal y del hígado de pollos de 0 a 4 semanas y sobre el valor nutritivo en estos de una dieta conteniendo cebada (cultivar Alpha, 3,23% de β -glucanos) a los 30 días de edad, tomando como referencia una dieta maíz-soja.

Diseño experimental: Se utilizaron 180 pollos distribuidos en 5 grupos con 4 repeticiones de 9 aves. Los grupos correspondían a los siguientes tratamientos:

Referencia: Dieta maíz-soja.

Testigo: Dieta cebada-soja.

B. subtilis: Dieta cebada-soja adicionada con 3×10^8 cfu (150 mg)/kg de pienso del concentrado de *B. subtilis*.

L. acidophilus+*S. faecium*: Dieta cebada-soja. A diario hasta los 14 días de edad y en días alternos desde esta

edad hasta el final del experimento, se adicionó al agua de bebida un concentrado de *L. acidophilus* + *S. faecium* a una dosis aproximada de $2,8 \times 10^8$ cfu de cada cepa por ave.

β -glucanasa: Dieta basal adicionada con un concentrado de β -glucanasa en la proporción de 500 mg por kg de pienso.

3.2.5.2.- Experimento nº 2:

Objetivo: Determinar los efectos de la utilización de concentrados de *B. subtilis*, de una mezcla de *L. acidophilus* + *S. faecium* o de β -glucanasa sobre el crecimiento y desarrollo intestinal y del hígado de pollos de 0 a 4 semanas y sobre el valor nutritivo en estos de una dieta con cebada de alto contenido en β -glucanos (cultivar Trait d'Union, 4,35% de β -glucanos) a los 30 días de edad, teniendo como referencia una dieta maíz-soja.

Diseño experimental: Se emplearon 200 pollos distribuidos en igual número de grupos y repeticiones que lo reseñado en el experimento nº 1, diferenciándose únicamente en el número de pollos por repetición que era de 10. Los tratamientos fueron idénticos a los establecidos en el experimento nº 1.

3.2.5.3.- Experimento nº 3:

Objetivo: Determinar los efectos de la adición al pienso de concentrados de *B. cereus* o de *S. faecium*, o de un reconstituido en medio lácteo y liofilizado de *L. bulgaricus* + *S. thermophilus*

+ *B. bifidum* sobre el crecimiento y de pollos de 0 a 4 semanas y sobre el desarrollo del intestino e hígado en estos y valor nutritivo de una dieta con cebada Trait d'Union a los 30 días de edad.

Diseño experimental: Se emplearon 200 pollos distribuidos en 4 grupos con 4 repeticiones de 10 aves, de la siguiente manera:

- Testigo:** Dieta cebada-soja.
- B. cereus*:** Dieta cebada-soja más un cultivo concentrado de *B. cereus* cepa CCT953 a la dosis de 10^9 cfu por kg de pienso.
- S. faecium*:** Dieta cebada-soja más un preparado lácteo conteniendo *S. faecium* cepa CL15 a la dosis de 10^9 cfu por kg de pienso
- L. bulgaricus*+*S. termophilus*+*B. bifidum*:** Dieta cebada-soja adicionada con $2,3 \times 10^9$ cfu (3,5 g) por kg de pienso del liofilizado conteniendo la mezcla *L. bulgaricus* + *S. termophilus* + *B. bifidum*. Los microorganismos fueron añadidos a porciones de pienso de 5 kg mantenidas a 3-6 °C hasta el momento de su administración.

3.2.6.- Parámetros determinados

3.2.6.1.- Crecimiento y eficiencia nutritiva del pienso

Todos los animales se pesaron individualmente a la 1ª, 2ª, 3ª y 4ª semanas de edad, calculándose la ganancia de peso (media por repetición) por ave y para cada semana y el total de las 4

semanas. Para los mismos períodos se determinó el consumo de pienso y el índice de transformación.

3.2.6.2.- Medidas de intestino e hígado

A los 31 días de edad de los pollos en los experimentos 1 y 3 y a los 29 días de edad en el experimento 2, se eligieron 8 pollos por cada tratamiento para la determinación de la longitud del íleon y los ciegos, así como el peso del hígado.

En todos los casos los pollos se sacrificaron por dislocación cervical. Una vez eviscerados se procedió a la disección del íleon, ciegos e hígado. El íleon se determinó como la porción intestinal comprendida entre el pedúnculo de la yema y la unión ileocecal. Una vez realizadas las medidas, los datos se refirieron al peso vivo del animal, obteniéndose el peso o la longitud relativos del hígado o porciones intestinales medidas.

3.2.7.- Determinación de la digestibilidad de la materia seca, almidón, grasa, FND, proteína y aminoácidos, degradabilidad de los β -glucanos y retención de cenizas y minerales

En todos los experimentos, al comienzo de la 4ª semana se eligió una repetición por cada tratamiento de acuerdo con el peso medio y homogeneidad de los pollos. Durante 5 días se les administró el pienso correspondiente, adicionado de óxido crómico como indicador, en la proporción de 3g por kg. Al final de este período se colocaron rejillas de separación en las jaulas, de forma que quedaran subgrupos de 3 pollos en cada repetición. De

esta manera se dispuso del número de datos necesario para el análisis estadístico.

3.2.7.1.- Muestras de excretas

Estas muestras se utilizaron para realizar los cálculos de digestibilidad de la PB, almidón, extracto etéreo y FND, degradabilidad de los β -glucanos y retención de cenizas y minerales.

Obtención y preparación de las muestras:

Durante 3 días consecutivos se recolectaron en bandejas las excretas de las repeticiones que tomaban los piensos con óxido crómico. También se tomó una porción de unos 100 g de cada pienso con el indicador.

Las muestras de excretas se congelaron inmediatamente a su toma en cámara frigorífica a -15°C hasta el momento de la liofilización. Posteriormente, tanto las muestras de excretas como las de piensos se molieron en molino centrífugo con tamiz de 0,5 mm de paso de malla y se conservaron a temperatura ambiente hasta el momento de los análisis que se realizaron por duplicado para cada muestra y aceptando el resultado cuando el error entre los dos valores no era mayor del 5%.

Técnicas analíticas:

Sustancia seca: para las excretas se calculó como la diferencia de peso entre las muestras frescas y después de liofilizarlas.

En las muestras para análisis se obtuvo mediante desecación en estufa a 103 °C durante 24 h.

Proteína bruta, fibra neutro detergente y grasa: metodología de la AOAC (1975).

Oxido crómico: incineración de la muestra en horno a 550 °C, dilución de las cenizas en agua destilada y medida del color de la solución por espectrofotometría a 315 nm, de acuerdo con el método de Brisson (1958).

Almidón: método enzimático de Karkalas (1985), basado en la centrifugación previa para separar los azúcares solubles del almidón e hidrólisis de éste con amilasa y amiloglucosidasa. La glucosa liberada reacciona con el complejo glucooxidasa-peroxidasa y se mide la solución mediante espectrofotometría a 505 nm.

Minerales: incineración en horno mufla a 550°C. Para el Na, K, Fe, Mn, Cu y Zn, reacción con $\text{ClH}:\text{NO}_3$ y para el Ca y Mg además se añade lantano. Medición de la solución por absorción atómica. El P se diluye en ClH y se mide por espectrofotometría a 400nm.

Cenizas: determinación gravimétrica tras incineración en horno mufla a 550 °C durante 8h.

β -glucanos: de acuerdo con el método de Aman y Graham (1987), se extrae el almidón por hidrólisis con amilasa y amiloglucosidasa y posterior centrifugación. Degradación de los β -glucanos del sedimento con β -glucanasa y reacción de la glucosa liberada con

glucooxidasa-peroxidasa. Medición de la solución mediante espectrofotometría a 505 nm.

Acido úrico de las excreta: precipitación de la proteína de la muestra con ácido perclórico y medición del ácido úrico en el extracto por espectrofotometría a 285 nm siguiendo el método de Marquardt (1983).

3.2.7.2.- Muestras de ileon

Estas muestras se utilizaron para determinar la digestibilidad de los aminoácidos de las dietas utilizadas en los experimentos 1 y 2.

Obtención y preparación de las muestras

Una vez sacrificados los pollos de los grupos y repeticiones elegidas y a las edades reseñadas para las medidas viscerales, se ligó la porción ileal del intestino previamente a la medición de su longitud para evitar pérdida de contenido, siendo éste posteriormente vaciado en recipientes de cristal mediante suave compresión. Las muestras se congelaron inmediatamente y almacenaron a -15°C hasta el momento de su preparación.

Técnica analítica

Para la determinación de los aminoácidos, las muestras se hidrolizaron durante 24 h en ácido clorhídrico 6N, en ebullición y bajo atmósfera de nitrógeno. El hidrolizado se llevó a sequedad por evaporación al vacío y redilución en agua destilada para

posteriormente ser analizado por cromatografía líquida de alta resolución, de acuerdo con la metodología de Jones et al. (1981).

3.2.7.3.- Cálculos para determinar los coeficientes de digestibilidad, degradabilidad y retención

Los valores de PB ($N \times 6,25$) se corrigieron restando el equivalente proteico del nitrógeno urinario que se asumió proveniente en su totalidad del ácido úrico analizado. De esta forma se obtuvo la proteína fecal y se calculó la digestibilidad verdadera de ésta (Scott et al. 1982).

Para las cenizas y minerales se ha calculado la retención siguiendo el método utilizado por Marquardt et al. (1979).

Para el extracto etéreo, FND, almidón y aminoácidos se calculó la digestibilidad aparente de acuerdo con la ecuación expresada por Scott et al. (1982).

Con referencia a los β -glucanos, se ha calculado la degradabilidad, cuyo procedimiento (Hesselman y Aman, 1986) es idéntico al de la digestibilidad de las sustancias nutritivas.

3.2.8.- Determinación de la energía metabolizable

Las muestras de pienso y excretas, una vez liofilizadas y molidas, se prepararon para la determinación de la energía bruta en un calorímetro adiabático tipo bomba (IKA C-4000), de acuerdo con la metodología indicada por el fabricante.

La energía metabolizable aparente, corregida para un balance nulo de nitrógeno (EMAn), se calculó mediante el procedimiento descrito por Matterson et al. (1965) y Scott et al. (1973), utilizando el óxido crómico como indicador. El Valor de EMAn se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{EMAn} = \frac{A - (B * \frac{C}{D}) + 8,22 * E}{D}$$

siendo:

EMAn: Energía metabolizable aparente corregida para un balance nulo de nitrógeno, kcal/kg

A: Energía bruta del pienso, kcal/kg

B: Energía bruta de las excretas, kcal/kg

C: Óxido crómico en el pienso, %

D: Óxido crómico en las excretas, %

E: Nitrógeno retenido por gramo de pienso ingerido, g

8,22: kcal/g de nitrógeno, proveniente del catabolismo de la proteína de los tejidos (Hill y Anderson, 1958)

El nitrógeno retenido por kg de pienso ingerido se calculó de la siguiente ecuación:

$$E = \frac{F - G * \frac{C}{D}}{D}$$

siendo:

F: Gramos de nitrógeno por kg de pienso

G: Gramos de nitrógeno por kg de excretas

Todos los datos han sido referidos a sustancia seca.

3.2.9.- Análisis estadístico

Para el estudio estadístico de los resultados se ha seguido la metodología descrita por Steel y Torrie (1980), estableciendo diferencias significativas y muy significativas entre las medias a niveles de p menores del 5% y del 1%, respectivamente.

Contenido en β -glucanos de las cebadas

Se aplicó el test de la t de Student, comparando el contenido en β -glucanos para cebadas de invierno o de primavera y según la anterior clasificación, para dos localidades: Alcubillas y Villarrubio en el caso de las cebadas de Invierno y Almaguer y Mengíbar para las cebadas de Primavera.

Datos de crecimiento

Para la ganancia en peso, consumo de pienso e índice de transformación, los datos corresponden a la media de cada una de las 4 repeticiones por tratamiento. El análisis de la varianza se realizó para las cuatro semanas y para el total del período de cada experimento. Si el valor de la F del análisis era significativo, se aplicaba posteriormente el test de Student-Newman-Kouls (Steel y Torrie, 1980) para separación de medias.

Medidas viscerales, digestibilidad de las distintas fracciones de la dieta, degradabilidad de β -glucanos, retención de cenizas y minerales y energía metabolizable

Se realizaron análisis de la varianza de un factor para la búsqueda de diferencias significativas a nivel del 5 o del 1 por ciento. La separación de medias se realizó mediante el test de Student-Newman-Keuls (Steel y Torrie, 1980).

En todos los análisis, el número de datos por experimento y tratamiento ha sido de 6, excepto para la retención de cenizas y minerales del experimento nº 1 y la digestibilidad de los aminoácidos, en que se contó con 4 datos por tratamiento.

IV. - RESULTADOS

IV.- RESULTADOS

4.1.- Contenido en β -glucanos totales de cultivares de cebadas del Centro y Sur de España

Los valores medios del contenido en β -glucanos totales de los cultivares de cebada analizados se encuentran en la Tabla 7. El análisis estadístico de los datos (Tabla 8) muestra que el contenido en β -glucanos de las cebadas de ciclo invernal fue menor que para las de primavera ($p < 0,01$), no diferenciándose este contenido cuando se hizo el estudio para la localidad, tanto para las cebadas de invierno como para las de primavera ($p > 0,05$).

4.2.- Composición químico-bromatológica de las cebadas y dietas empleadas en los experimentos

4.2.1.- Cebadas

4.2.1.1.- Análisis químico-bromatológico

Los resultados correspondientes a la determinación de la SS, PB, almidón, grasa, FB, cenizas, β -glucanos totales y solubles y EB de los cultivares de cebada Alpha y Trait d'Union se encuentran en la Tabla 9.

El contenido en SS es muy similar en los dos cultivares, con un valor medio del 88%. Sin embargo, el contenido de PB es bastante mayor en el cultivar Trait d'Union, llegando a alcanzar el 17%. Lo mismo ocurre para la FB (17% más) y para el contenido

Tabla 7 Contenido en β -glucanos totales de 13 cultivares de cebadas del centro y sur de España¹, año 1988 (% ss)

Cebadas de invierno				
Cultivar	Villarrubio	Alcubillas	Gómara	Media ²
ACK-76592	3,96	3,60		3,78 \pm 0,26
Barbarrosa	3,76	3,90		3,83 \pm 0,10
Alpha	3,65	2,20	3,23	3,03 \pm 0,75
Moncón	3,64	2,86		3,25 \pm 0,55
Media:	3,75 \pm 0,15	3,14 \pm 0,76		3,42 \pm 0,57
Cebadas de primavera				
Cultivar	C. Almaguer	Mengíbar	Gómara	Media ²
Oasis	4,86	4,28		4,57 \pm 0,41
Casino	4,03	4,43		4,23 \pm 0,28
T. d'Union	4,04	3,34	4,36	3,91 \pm 0,52
Logra	4,32	3,74		4,03 \pm 0,41
Kym	4,13	3,29		3,71 \pm 0,59
Pallas	3,97	3,7		3,84 \pm 0,19
Hassan	3,52	3,82		3,67 \pm 0,21
Fórmula	3,57			3,57
Auto	4,56			4,56
Media:	4,11 \pm 0,43	3,80 \pm 0,43	4,36	4,00 \pm 0,44

1 Localidades

Villarrubio, Cuenca

Alcubillas, Ciudad Real

Gómara, Soria

Corral de Almaguer, Toledo

Mengíbar, Jaén

2 Valores medios \pm error estándar

Tabla 8 Análisis estadístico del contenido en β -glucanos de 13 cultivares de cebadas del Centro y Sur de España

Variable	Niveles	Datos	Media	Error	Valor p
Temporada	Invierno	9	3,42	0,19	0,009
	Primavera	17	4,00	0,11	
Localidad	Villarrubio	4	3,75	0,07	0,17
	Alcubillas	4	3,14	0,38	
Localidad	C.Almaguer ¹	7	4,12	0,15	0,17
	Mengíbar	7	3,80	0,16	

¹ Excluidos los datos de los cultivares Fórmula y Auto

Tabla 9 Composición químico-bromatológica de los cultivares de cebada utilizados en los experimentos (% SS)

	Alpha	Trait d'Union
Humedad	11,70	12,10
Proteína bruta	14,58	17,21
Almidón	56,28	54,58
Extracto etéreo	2,37	2,26
Fibra bruta	4,28	5,00
Cenizas	2,12	1,83
β -Glucanos totales	3,23	4,35
β -Glucanos solubles	1,93	2,71
Energía bruta, kcal/kg	3997	3850

en β -glucanos totales, que es de 4,35% frente a un 3,23% del cultivar Alpha.

El 60% de los β -glucanos determinados en la cebada Alpha son solubles, mientras que en la cebada Trait d'Union se da un ligero aumento en dicha proporción, llegando al 62%.

El cultivar Alpha presenta mayor contenido de almidón (3% más), grasa bruta (5% más), cenizas (16% más) y EB (147 kcal/g más), respecto de la cebada Trait d'Union.

4.2.1.2.- Análisis de aminoácidos

Como puede observarse en la Tabla 10, se ha dado una variación entre cultivares en el contenido de los diferentes aminoácidos, sobre todo para la glicina, treonina, serina, valina e histidina. De esta forma, y para estos aminoácidos, el cultivar Alpha presenta mayor contenido de serina e histidina, mientras el cultivar Trait d'Union es más abundante en glicina, treonina y valina cuando se comparan ambos cultivares entre sí. Además, este cultivar tiene mayor proporción de lisina y metionina que la cebada Alpha.

4.2.2.- Dietas basales

4.2.2.1.- Análisis químico-bromatológico

La determinación de la SS, EB, PB, grasa, FND, FB, cenizas, almidón y β -glucanos de las dietas referencia, testigo Alpha y testigo Trait d'Union, se indica en la Tabla 11.

Tabla 10 Composición en aminoácidos de los cultivares de cebada utilizados en los experimentos (g/16g N)

	Alpha	Trait d'Union
Acido aspártico	4,12	4,64
Treonina	2,26	3,14
Serina	4,94	3,08
Acido glutámico	26,95	23,65
Glicina	4,32	2,21
Alanina	4,31	4,07
Valina	4,12	5,29
Metionina	1,51	1,63
Isoleucina	2,88	3,61
Leucina	7,82	6,91
Tirosina	3,71	4,07
Fenilalanina	5,35	5,93
Lisina	3,52	4,24
Histidina	2,06	1,51
Arginina	4,94	5,75

Tabla 11 Composición químico-bromatológica de las dietas referencia, testigo cebada Alpha y testigo cebada Trait d'Union (% SS)

	Referencia	Testigo Alpha	Testigo T. d'Union
Humedad	9,57	9,05	9,53
Energía bruta, kcal/kg	4020	4356	4312
Proteína bruta, N x 6,25	22,24	23,23	24,18
Extracto etéreo	4,74	9,95	9,56
F N D	15,21	19,43	20,32
Fibra bruta	4,18	5,08	5,17
Cenizas	6,21	6,47	6,25
Almidón	42,52	37,71	34,11
β -glucanos		1,67	2,12

Las dietas testigo, conteniendo cebada, muestran mayores valores de EB, grasa, FND y FB. Por su parte, la dieta de referencia es más rica en almidón. En cuanto a los β -glucanos, analizados en las dietas testigo, el contenido de estos polisacáridos ha sido mayor en la dieta conteniendo el cultivar de cebada Trait d'Union.

4.2.2.2.- Análisis de aminoácidos

La composición aminoacídica de las dietas experimentales se encuentra en la Tabla 12. El contenido de metionina y lisina de la dieta de referencia es mayor que en las dietas testigo. Al contrario, los valores de histidina han sido más altos en la dieta testigo Trait d'Union, mientras que los de treonina en la dieta testigo Alpha.

4.2.2.3.- Análisis de minerales

El contenido en macrominerales y oligoelementos se resume en la Tabla 13. Si se exceptúan el sodio, hierro y zinc, con mayor proporción en la dieta de referencia, el resto de minerales no presentó variaciones apreciables.

4.3.- Efectos de la adición de bacterias ácido-lácticas y de β -glucanasa sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva

Los resultados derivados de la sustitución de maíz por los cultivares de cebada Alpha o Trait d'Union están indicados en las Tablas 14 y 15. Del mismo modo, los datos correspondientes a la ganancia en peso y eficiencia nutritiva, resultantes de la

Tabla 12 Composición en aminoácidos de las dietas referencia testigo
cebada Alpha y testigo cebada Trait d'Union (g/16 g N)

	Referencia	Alpha	T. d'Union
Acido aspártico	9,85	9,09	9,43
Treonina	2,46	3,98	2,60
Serina	5,02	4,79	4,90
Acido glutámico	18,15	21,95	20,52
Glicina	5,38	6,47	5,77
Alanina	6,02	4,09	4,42
Valina	3,83	4,54	3,47
Metionina	2,55	1,54	1,78
Isoleucina	3,37	3,91	3,47
Leucina	8,47	6,40	7,67
Tirosina	3,74	3,71	3,31
Fenilalanina	4,28	4,47	4,42
Lisina	5,28	4,23	5,07
Histidina	2,19	1,43	3,75
Arginina	6,48	6,40	6,11

Tabla 13 Composición en minerales de las dietas referencia, testigo cebada Alpha y testigo cebada Trait d'Union (% SS)

	Referencia	Alpha	T. d'Union
Calcio, %	0,96	0,91	0,89
Fósforo, %	0,74	0,69	0,73
Magnesio, %	0,16	0,16	0,16
Potasio, %	0,92	0,91	0,84
Sodio, %	0,15	0,11	0,17
Cobre, ppm	14	12	12
Hierro, ppm	149	142	165
Manganeso, ppm	93	92	88
Zinc, ppm	67	69	64

adición al pienso o al agua de bebida de *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. faecium*, *L. acidophilus* + *S. faecium*, *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* o β -glucanasa se recogen en las Tablas 16, 17 y 18.

Todos los resultados que se exponen seguidamente y en términos comparativos se refieren a los grupos tratados con microorganismos o β -glucanasa frente al grupo testigo.

4.3.1.- Ganancia en peso

De acuerdo con los resultados relativos a la sustitución de maíz (dieta referencia) por cebada Alpha (dieta testigo), no se apreciaron diferencias significativas en la ganancia en peso para cada una de las semanas de edad ni para el total del período (Tabla 14).

Cuando se utilizó cebada Trait d'Union, con mayor contenido en β -glucanos que el cultivar Alpha (Tabla 15), se obtuvo un menor crecimiento de las aves en las dos primeras semanas de edad respecto al maíz ($p < 0,01$).

Bacillus subtilis

La utilización de *B. subtilis* no mejoró la ganancia en peso con la dieta cebada Alpha (Tabla 14). Para el cultivar Trait d'Union, la adición de *B. subtilis* al pienso determinó mayor crecimiento en la 1ª y 2ª semana de edad ($p < 0,01$). No obstante, las diferencias no fueron significativas en las restantes semanas o en la totalidad del experimento.

Tabla 14 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre el crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos (Exp. 1)

	Referencia	Tratamientos ¹ (cebada Alpha)				
		N.S.	B.sub	L.aci+S.fae	B-Gl	ES ²
Ganancia en peso, g						
Semanas de edad:1a	68 ^{AB}	62 ^A	68 ^{AB}	74 ^B	70 ^{AB}	2
2a	134	136	145	152	139	8
3a	237 ^{AB}	210 ^A	224 ^{AB}	248 ^B	233 ^{AB}	9
4a	346	334	356	335	338	23
Total del período	784	742	792	809	780	32
Consumo de pienso, g						
Semanas de edad:1a	95	89	95	100	97	2
2a	203	191	204	205	195	10
3a	346	332	335	357	351	18
4a	561	562	594	573	562	24
Total del período	1204	1174	1228	1234	1205	37
Índice transformación						
Semanas de edad:1a	1,39	1,45	1,40	1,35	1,39	0,03
2a	1,52	1,41	1,41	1,35	1,40	0,07
3a	1,46	1,58	1,50	1,44	1,51	0,08
4a	1,62	1,68	1,67	1,71	1,66	0,06
Total del período	1,53	1,58	1,55	1,53	1,54	0,03

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, B-Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 15 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre el crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos (Exp. 2)

		Tratamientos ¹ (cebada T. d'Union)				
	Referencia	N.S.	B.sub	L.aci+S.fae	B-Glu	ES ²
Ganancia en peso, g						
Semanas de edad:1a	69 ^E	60 ^A	68 ^E	63 ^{AB}	78 ^C	2
2a	174 ^{BC}	143 ^A	166 ^{BC}	153 ^{AB}	180 ^C	5
3a	268	262	282	265	267	6
4a	346	343	334	355	371	27
Total del período	857	808	850	836	897	32
Consumo de pienso, g						
Semanas de edad:1a	98 ^B	82 ^A	88 ^{AB}	82 ^A	99 ^B	4
2a	248 ^B	204	240 ^B	224 ^{AB}	246 ^B	5
3a	425	410	424	424	428	12
4a	541	546	534	554	559	34
Total del período	1312	1241	1286	1284	1332	34
Índice transformación						
Semanas de edad:1a	1,42	1,37	1,30	1,31	1,27	0,06
2a	1,43	1,42	1,44	1,47	1,36	0,03
3a	1,59	1,56	1,50	1,60	1,60	0,05
4a	1,56	1,59	1,60	1,56	1,51	0,04
Total del período	1,53	1,54	1,51	1,54	1,49	0,03

1 N.S.: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

A-C Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 16 Efectos de la utilización de BAL en el alimento sobre el crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos (Exp. 3)

	Tratamientos ¹ (cebada T. d'Union)				ES ²
	N.S.	B.cer	S.fae	L.bul + S.the + B.bif	
Ganancia en peso, g					
Semanas de edad:1a	63	70	70	64	3
2a	101 ^a	108 ^{ab}	117 ^c	105 ^{ab}	3
3a	230	248	248	244	10
4a	285 ^a	367 ^b	346 ^b	357 ^b	17
Total del período	680 ^a	797 ^b	784 ^b	777 ^b	26
Consumo de pienso, g					
Semanas de edad:1a	92	92	93	89	3
2a	154	161	165	153	5
3a	356	370	359	364	10
4a	432 ^a	525 ^b	512 ^b	499 ^b	14
Total del período	1034 ^a	1153 ^b	1127 ^b	1111 ^{ab}	26
Índice transformación					
Semanas de edad:1a	1,45 ^b	1,31 ^a	1,33 ^a	1,40 ^{ab}	0,03
2a	1,52	1,48	1,41	1,46	0,04
3a	1,54	1,49	1,45	1,49	0,03
4a	1,53	1,43	1,48	1,40	0,08
Total del período	1,52	1,45	1,44	1,44	0,03

1 N.S.: No suplementado, B.cer: *B. cereus* en el pienso, S.fae: *S. faecium* en el pienso, L.bul+S.the+B.bif: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Bacillus cereus CCT-953

La adición de *B. cereus* a una dieta cebada Trait d'Union (Tabla 16) produjo mejoras en el crecimiento de los pollos en la 4ª semana, así como en el total del período experimental ($p < 0,05$).

Streptococcus faecium CL-15

Los datos obtenidos durante la 2ª y 4ª semana de edad y para la totalidad del período, demostraron que la adición de *S. faecium* a la dieta conteniendo cebada Trait d'Union (Tabla 16) mejoró la ganancia en peso de las aves ($p < 0,05$).

Lactobacillus acidophilus + Streptococcus faecium

La utilización en el agua de bebida de una mezcla de *L. acidophilus* + *S. faecium* permitió obtener una mejora del crecimiento de las aves durante la 1ª y 3ª semana de edad ($p < 0,01$) al utilizar cebada Alpha en la dieta (Tabla 14). Cuando se sustituyó este por el cultivar Trait d'Union, no se obtuvo mejora alguna para la ganancia en peso de los pollos (Tabla 15).

Lactobacillus bulgaricus + Streptococcus thermophilus + Bifidobacterium bifidum

Como puede verse en la Tabla 16, la adición a la dieta cebada Trait d'Union de una mezcla de *L. bulgaricus* + *S. faecium* + *B. bifidum* dio lugar a una mejora en la ganancia en peso de los

pollos, tanto en la 4ª semana como para la totalidad del período ($p < 0,05$).

β -glucanasa

El crecimiento de las aves alimentadas con la dieta cebada Alpha no experimentó modificaciones significativas cuando se empleó β -glucanasa (Tabla 14). Sin embargo, cuando se utilizó la cebada Trait d'Union (Tabla 15), la β -glucanasa determinó mayor ganancia en peso de las aves tanto en la 1ª como en la 2ª semana de edad ($p < 0,01$).

4.3.2.- Consumo de pienso

La sustitución de maíz por cebada Alpha no comportó variaciones en el nivel de ingestión del pienso en cada una de las 4 semanas de edad o en el conjunto del período experimental, tal y como se observa en la Tabla 14. Por el contrario la utilización de la cebada con mayor contenido en β -glucanos (Trait d'Union), originó un menor consumo de pienso durante la 1ª y 2ª semana del experimento (Tabla 15).

Bacillus subtilis

En ninguna de las semanas del experimento 1, en el que se utilizó cebada Alpha, se observaron diferencias significativas en el consumo de pienso (Tabla 14). Cuando se sustituyó la cebada Alpha por el cultivar Trait d'Union se evidenciaron diferencias ($p < 0,01$) durante la 1ª y 2ª semana de edad en los pollos alimentados con la dieta adicionada de *B. subtilis* (Tabla 15).

Bacillus cereus CCT-953

De acuerdo con los resultados que refleja la Tabla 16, la adición de *B. cereus* a la dieta cebada Trait d'Union supuso un incremento en el consumo de pienso durante la 4ª semana de edad de las aves ($p < 0,01$) y para el total de período ($p < 0,05$).

Streptococcus faecium CL-15

La utilización del *S. faecium* en la dieta cebada Trait d'Union (Tabla 16) determinó mayor consumo de pienso en los pollos a la 4ª semana de edad ($p < 0,01$) si bien no se observaron diferencias en cada una de las semanas anteriores o para el total del período experimental.

Lactobacillus acidophilus + Streptococcus faecium

Cuando se empleó la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua (Tabla 14), se dio mayor consumo del pienso con cebada Alpha durante la 1ª semana de edad ($p < 0,05$). Al sustituir ésta por la cebada Trait d'Union (Tabla 15) la mezcla de BAL no originó diferencias en el nivel de ingestión de pienso para cualquiera de las semanas o para el total del período.

Lactobacillus bulgaricus + Streptococcus termophilus + Bifidobacterium bifidum

El consumo de pienso determinado en las aves del grupo alimentado con la dieta cebada Trait d'Union suplementada con la

mezcla de *L. bulgaricus* + *S. termophilus* + *B. bifidum* (Tabla 16) fue mayor únicamente en la 4ª semana de experimentación ($p < 0,01$).

β -glucanasa

Como se observa en las Tablas 14 y 15, la utilización de β -glucanasa en la dieta con cebada Alpha no alteró significativamente en el consumo de pienso. Sin embargo, para la dieta con cebada Trait d'Union, la inclusión de β -glucanasa originó mayor ingestión de pienso en la 1ª y 2ª semana de edad ($p < 0,01$).

4.3.3.- Eficiencia nutritiva

De acuerdo con los resultados que se han obtenido y que pueden observarse en las Tablas 14 y 15, la sustitución del maíz de la dieta por cebada Alpha o por cebada Trait d'Union no originó variaciones significativa en el índice de transformación del pienso para ninguna de las semanas controladas ni para el total del período.

Bacillus subtilis

La utilización de *B. subtilis* no mejoró la eficiencia nutritiva de los piensos conteniendo cebada Alpha o Trait d'Union) como puede verse en las Tablas 14 y 15.

Bacillus cereus CCT-953

En la 1ª semana de edad, la suplementación de *B. cereus* a la dieta cebada Trait d'Union (Tabla 16) supuso un menor índice

de transformación del pienso ($p < 0,05$). Esta mejora no se continuó en el resto de las semanas o para la totalidad del período.

Streptococcus faecium CL-15

La adición de *S. faecium* a la dieta cebada Trait d'Union (Tabla 16) no mejoró la eficiencia nutritiva en comparación con la dieta testigo, tanto para cada semana de edad como para el total del experimento.

Lactobacillus acidophilus + *Streptococcus faecium*

Los índices de transformación de las aves en cuya dieta se utilizó *L. acidophilus* + *S. faecium* muestran que no se obtuvieron mejoras en la eficiencia nutritiva del pienso, tanto cuando se utilizó cebada Alpha (Tabla 14) como con cebada Trait d'Union (Tabla 15) y para cada una de las semana de edad o para el total del período experimental.

Lactobacillus bulgaricus + *Streptococcus termophilus* + *Bifidobacterium bifidum*

La eficiencia nutritiva de la dieta conteniendo cebada Trait d'Union no se incrementó cuando se utilizó la mezcla *L. bulgaricus* + *S. faecium* + *B. bifidum* (Tabla 16) en ninguna de las semanas o en el total del experimento.

β -glucanasa

Los resultados de las Tablas 14 y 15, referidos a la utilización de β -glucanasa, no mostraron diferencias en los

índices de transformación de las aves para cada una de las semanas o para todo el período, tanto con la dieta cebada Alpha como con la dieta cebada Trait d'Union.

4.4.- Medidas viscerales

Los resultados relativos a medidas viscerales (porcentaje sobre el peso vivo) así como los correspondientes al pH del contenido ileal y cecal se especifica en las Tablas 17, 18 y 19.

4.4.1.- Longitudes de ileon y ciegos

La longitud relativa del ileon de los pollos alimentados con la dieta cebada Alpha adicionada con *B. subtilis* (Tabla 17) fue menor ($p < 0,05$). Sin embargo, no se observó este efecto al utilizar cebada Trait d'Union. La adición de *B. cereus* a la dieta cebada Trait d'Union fue significativa para la longitud relativa del ileon ($p < 0,05$) pero no para la longitud relativa de los ciegos (Tabla 19).

La utilización de *S. faecium* en la dieta (Tabla 19) supuso una menor longitud relativa del ileon ($p < 0,05$). Las medidas de los ciegos no evidenciaron diferencias apreciables. El empleo de la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* originó una disminución de la longitud relativa del ileon de las aves ($p < 0,05$) únicamente cuando se utilizó la cebada Alpha (Tabla 17).

De acuerdo con los resultados de las Tablas 17 y 18, la utilización de β -glucanasa en el pienso cebada-soja resultó en una disminución de la longitud relativa del ileon de los pollos pero no implicó variación alguna en el tamaño de los ciegos.

Tabla 17 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la longitud y pH del contenido de ileon y ciegos y peso del hígado en pollos (Exp. 1)

	Referencia	Tratamientos ¹ (cebada Alpha)					ES ²
		N.S.	B.sub	L.aci+ S.f.a	B-Glu		
Longitud intestinal:							
Ileon, cm/100 g p.v.	6,37 ^A	6,89	6,41 ^A	6,47 ^A	6,39 ^A	0,13	
Ciegos, cm/100 g p.v.	1,50	1,55	1,42	1,50	1,54	0,04	
pH del contenido:							
Ileon	7,72 ^{Ab}	8,03 ^b	7,21 ^A	7,86 ^{ab}	7,79 ^{ab}	0,18	
Ciegos	6,54 ^B	6,32 ^{AB}	5,66 ^A	6,07 ^{AB}	5,61 ^A	0,17	
Peso hígado, g/100 g p.v	2,07 ^A	2,43 ^B	2,42 ^B	2,34 ^{AB}	2,28 ^{AB}	0,07	

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A,B letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 18 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la longitud y pH del contenido de ileon y ciegos y peso del hígado en pollos (Exp. 2)

	Refe- rencia	Tratamientos ¹ (cebada T.					ES ²
		N.S.	B.sub	L.aci+ S.fae	B-Glu		
Longitud intestinal:							
Ileon, cm/100 g p.v.	6,83 ^A	7,77 ^b	7,54 ^{ab}	7,27 ^{ab}	6,73 ^A	0,24	
Ciegos, cm/100 g p.v.	1,72	1,77	1,79	1,72	1,69	0,07	
pH del contenido:							
Ileon	7,64	7,98	7,32	7,47	7,68	0,17	
Ciegos	6,36	6,31	5,90	5,84	6,19	0,16	
Peso hígado, g/100 g p.v.	2,36	2,54	2,63	2,61	2,45	0,08	

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 19 Efectos de la utilización de BAL en el alimento sobre la longitud de ileon y ciegos y peso del hígado en pollos (Exp. 3)

	Tratamientos ¹ (cebada T. d'Union)				
	N.S.	B.cer	S.fae	L.bul + S.thr + B.bif	ES ²
Longitud intestinal:					
Ileon, cm/100 g p.v.	7,13 ^a	6,21 ^b	6,17 ^a	6,74 ^{ab}	0,21
Ciegos, cm/100 g p.v.	1,65	1,46	1,50	1,50	0,05
Peso hígado, g/100 g p.v.	2,36	2,38	2,87	2,40	0,07

1 N.S.: No suplementado, B.cer: *B. cereus* en el pienso, S.fae: *S. faecium* en el pienso, L.bul+S.the+B.bif: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La longitud relativa del ileon de los pollos disminuyó ($p < 0,05$) al suplementar las dietas conteniendo cebada con glucanasa (Tablas 17 y 18). El tamaño de los ciegos, por el contrario, no experimentó variación.

4.4.2.- Ph de los contenidos ileal y cecal

La adición de *B. subtilis* al pienso cebada Alpha (Tabla 17) hizo disminuir significativamente el valor de Ph del contenido ileal ($p < 0,05$), mientras que el Ph del contenido de los ciegos fue muy similar entre este grupo y el testigo ($p < 0,05$).

El análisis estadístico de la utilización de los restantes microorganismos o de β -glucanasa en la alimentación de pollos, no reveló diferencias en el valor del Ph del contenido ileal o cecal ($p > 0,05$).

4.4.3.- Peso del hígado

La adición de microorganismos o β -glucanasa a los piensos conteniendo cebada Alpha o Trait d'Union (Tablas 17 y 18) no alteró el peso relativo del hígado ($p < 0,05$).

4.5.- Energía metabolizable, digestibilidad de las diversas fracciones y degradabilidad de β -glucanos

Los resultados correspondientes a los valores obtenidos para la EM y digestibilidad aparente de las distintas fracciones de la dieta y degradabilidad de los β -glucanos se encuentran en las Tablas 20, 21 y 22.

Tabla 20 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la EM, digestibilidad de las diversas fracciones de la dieta y degradabilidad de los β -glucanos en pollos (Exp. 1)

	Refe- ren- cia	Tratamientos ¹ (cebada Alpha)				
		N.S.	B.sub	L.aci+ S.fae	B-Glu	ES ²
EMA, kcal/kg	3262 ^b	3107 ^A	3038 ^A	3035 ^A	3140 ^A	29
Digestibilidad, %						
Materia seca	70,42 ^B	65,14 ^A	63,22 ^A	63,82 ^A	66,18 ^A	0,74
Proteína	78,34 ^A	78,09 ^A	77,72 ^A	80,95 ^B	81,58 ^B	0,62
Almidón	98,20 ^b	95,32 ^A	96,64 ^{ab}	97,61 ^b	98,02 ^b	0,64
Grasa bruta	83,54 ^A	89,79 ^B	88,48 ^B	91,32 ^B	92,43 ^B	0,94
FND	38,38 ^B	33,67 ^{AB}	29,74 ^A	28,26 ^A	31,30 ^{AB}	1,67
Degradabilidad, %						
B-glucanos	N D ³	37,17	38,29	32,47	41,06	2,56

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L. sub+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

3 No determinado.

a-c; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 21 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la EM, digestibilidad de las diversas fracciones de la dieta y degradabilidad de β -glucanos en pollos (Exp. 2)

	Referencia	Tratamientos ¹ (cebada Trait d'Union)				
		N.S.	B.sub	L.aci+ S.fae	β -Glu	ES ²
EMA, kcal/kg	3145 ^b	2981 ^A	3036 ^A	3040 ^A	3136 ^b	25
Digestibilidad, %						
Materia seca	68,31 ^B	59,99 ^A	61,20 ^A	63,68 ^{AB}	64,97 ^B	0,79
Proteína	82,51 ^b	78,18 ^A	82,68 ^b	81,86 ^{ab}	81,32 ^{ab}	1,05
Almidón	99,43 ^B	97,24 ^A	97,43 ^A	97,08 ^A	99,03 ^B	0,38
Grasa bruta	85,50 ^A	87,21 ^{AB}	89,73 ^B	89,33 ^B	92,94 ^C	0,62
END	37,82 ^b	30,01 ^A	32,91 ^{ab}	35,28 ^{ab}	34,98 ^{ab}	1,72
Degradabilidad, %						
β -glucanos	N D ³	39,01	43,18	39,72	44,46	2,55

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+ S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

3 No determinado.

a-c; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 22 Efectos de la utilización de BAL¹ en el alimento sobre la EM, digestibilidad de las diversas fracciones de la dieta y degradabilidad de β -glucanos en pollos (Exp. 3)

	Tratamientos ¹ (cebada Trait d'Union)				
	N.S.	B.cer	S.fae	L.bul+ S.the+ B.bif	ES
EMA, kcal/kg	2991 ^A	3068 ^b	3033 ^{ab}	2993 ^A	19
Digestibilidad, %					
Materia seca	62,77 ^A	64,94 ^b	62,91 ^A	61,73 ^A	0,64
Proteína	80,04 ^A	82,84 ^b	82,04 ^{ab}	81,25 ^{ab}	0,68
Almidón	95,91	96,70	96,92	95,26	0,56
Grasa bruta	82,95 ^A	82,20 ^A	86,89 ^B	85,43 ^{AB}	0,77
END	32,59	34,74	33,31	31,70	1,97
Degradabilidad, %					
β -glucanos	45,54 ^A	52,67 ^b	50,37 ^{ab}	49,38 ^{ab}	1,55

1 N.S.: No suplementado, B.cer: *B. cereus* en el pienso, S.fae: *S. faecium* en el pienso, L.bul+S.the+B.bif: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente)

4.5.1.- Energía metabolizable

Ni los microorganismos ni la β -glucanasa determinaron una variación en los valores de EM de las dietas conteniendo el cultivar Alpha (Tabla 20). Sin embargo, la EM de la dieta cebada Trait d'Union se incrementó ($p < 0,01$) al adicionar β -glucanasa (Tabla 21) y *B. cereus* ($p < 0,05$, Tabla 22).

4.5.2.- Digestibilidad aparente de la PB, almidón, grasa, FND y MS

Tanto el empleo de la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* como de la β -glucanasa incrementaron la digestibilidad de la PB ($p < 0,01$) y almidón ($p < 0,05$) de la dieta conteniendo cebada Alpha (Tabla 20). Para el cultivar Trait d'Union, la β -glucanasa mejoró ($p < 0,01$) la digestibilidad de la MS, almidón y grasa (Tabla 21), el *B. cereus* mejoró ($p < 0,05$) la materia seca y PB (Tabla 22), el *S. faecium* la grasa ($p < 0,01$) y el *B. subtilis* la PB ($p < 0,05$).

4.5.3.- Degradabilidad de los β -glucanos

La utilización de *B. cereus* aumentó ($p < 0,05$) la degradabilidad de los β -glucanos del pienso conteniendo cebada Trait d'Union (Tabla 22).

4.7.- Digestibilidad de los aminoácidos

Los datos relativos a la digestibilidad aparente de los aminoácidos correspondientes a las diferentes dietas se recogen en las Tablas 23 y 24.

Tabla 23 Efectos de la utilización de BAL y β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la digestibilidad de los aminoácidos en pollos (Exp 1)

		Tratamientos ¹ (cebada Alpha)				
	Refe- rencia	N.S.	B.sub	L.aci+ S.fae	B-Glu	ES ²
A. esenciales						
Metionina	93,75 ^b	88,47 ^{ab}	84,50 ^a	92,47 ^b	92,73 ^b	2,30
Lisina	88,35	76,33	75,59	88,13	87,32	2,77
Arginina	88,82	83,29	86,68	84,20	88,41	2,11
Fenilalanina	84,66	81,19	82,05	85,23	84,85	2,09
Histidina	89,96	88,45	88,77	94,16	93,40	1,93
Treonina	72,40	75,12	77,92	72,88	72,64	3,73
Valina	80,63	78,49	77,83	80,04	78,11	2,20
Leucina	88,38 ^b	79,80 ^a	82,30 ^{ab}	87,85 ^b	86,74 ^b	2,28
Isoleucina	83,04	80,80	83,88	83,57	81,87	2,13
A. no esenciales						
Acido aspártico	83,25	78,09	83,73	81,53	81,04	2,16
Acido glutámico	86,66	86,84	89,19	87,06	87,90	1,74
Glicina	83,50	82,17	85,89	89,49	83,86	3,75
Tirosina	86,08	80,90	84,69	83,92	84,91	2,08
Alanina	86,56 ^b	72,51 ^A	77,68 ^{AB}	84,30 ^{AB}	82,11 ^{AB}	2,80
Serina	85,03	78,93	84,47	86,72	83,14	2,68
Media	85,40	80,75	83,01	85,44	84,60	1,36

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 24 Efectos de la utilización de BAL en la alimentación sobre la digestibilidad de los aminoácidos en pollos (Exp. 3)

	Tratamientos ¹ (cebada Trait d'Union)				
	N.S.	B.cer	S.fae	L.bul+ S.the+ B.bif	ES ²
A. esenciales					
Metionina	87,14 ^{AB}	93,95 ^B	85,62 ^{AB}	77,36 ^A	2,15
Lisina	75,21 ^A	89,44 ^B	71,61 ^A	69,45 ^A	2,68
Arginina	81,02 ^A	91,52 ^B	82,60 ^A	80,26 ^A	2,01
Treonina	70,74	73,36	76,19	58,78	4,95
Valina	80,25 ^B	83,12 ^B	78,09 ^{AB}	69,58 ^A	1,98
Leucina	81,79 ^{AB}	88,31 ^B	79,72 ^{AB}	71,96 ^A	2,58
Isoleucina	75,12 ^{AB}	84,77 ^B	80,20 ^{AB}	70,52 ^A	2,50
Fenilalanina	79,58 ^A	89,33 ^B	80,67 ^A	78,11 ^A	2,16
Histidina	82,65 ^A	95,10 ^B	86,12 ^A	77,58 ^A	2,00
A. no esenciales					
A. aspártico	77,69 ^{ab}	83,52 ^b	79,65 ^{ab}	73,15 ^a	1,85
A. glutámico	86,19 ^{AB}	91,20 ^B	86,55 ^{AB}	80,57 ^A	1,54
Glicina	83,62	86,82	91,47	86,26	2,45
Tirosina	78,44 ^A	89,06 ^b	80,45 ^A	77,19 ^A	2,35
Alanina	73,10 ^{AB}	85,83 ^B	68,02 ^A	62,36 ^A	3,21
Serina	76,48 ^A	87,34 ^b	83,30 ^{ab}	75,94 ^A	2,37
Media	79,27 ^{AB}	87,51 ^C	80,70 ^B	73,94 ^A	1,50

1 N.S.: No suplementado, B.cer: *B. cereus* en el pienso, S.fae: *S. faecium* en el pienso, L.bul+S.the+B.bif: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

a,b; A-C Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

4.7.1.- Efectos de las BAL y β -glucanasa sobre la dieta conteniendo cebada Alpha

La utilización de la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida o de β -glucanasa en el pienso determinó únicamente un incremento de la digestibilidad de la leucina con un valor de $p < 0,05$ en ambos grupos (Tabla 23).

4.7.2.- Efectos de las BAL y β -glucanasa sobre la dieta conteniendo cebada Trait d'Union

La adición de *B. cereus* al pienso conteniendo cebada Trait d'Union dio lugar a cambios significativos en la digestibilidad de algunos aminoácidos. Así, se tuvieron niveles de $p < 0,05$ para la serina, fenilalanina y tirosina y de $p < 0,01$ para la histidina, lisina, arginina y valor medio (Tabla 24). Si se exceptúa la digestibilidad de la valina cuando se empleó la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* ($p < 0,01$), el resto de aminoácidos o el valor medio no se vieron afectados por la utilización de los anteriores microorganismos o del *S. faecium*.

4.6.- Retención de cenizas y minerales

Los resultados sobre retención de cenizas y minerales, correspondientes a la utilización de los diferentes microorganismos o β -glucanasa en dietas en las que se sustituyó maíz por cebada Alpha o cebada Trait d'Union están recogidas en las Tablas 25, 26 y 27. En este apartado conviene precisar que los valores negativos que se obtuvieron para la retención del Fe, Mg y Zn en

Tabla 25 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la retención de cenizas y minerales en pollos (Exp 1)

	Refe- rencia	Tratamientos ¹ (cebada Alpha)				
		N.S.	B.sub	L.aci+ S.fae	β -Glu	ES ²
Cenizas	34,39	30,82	27,75	31,68	31,02	2,30
Calcio	48,15 ^b	38,56 ^a	38,87 ^a	41,27 ^{ab}	43,23 ^{ab}	1,92
Fósforo	46,33 ^{ab}	44,40 ^{ab}	40,74 ^a	49,25 ^b	45,89 ^{ab}	1,63
Magnesio	61,22	60,42	54,75	59,81	58,68	1,63
Potasio	22,05 ^B	18,08 ^b	0,98 ^A	25,79 ^B	14,73 ^b	3,07
Sodio	20,83 ^{ab}	30,98 ^{ab}	30,18 ^{ab}	6,51 ^A	35,07 ^b	6,44
Cobre	1,28 ^A	21,93 ^{AB}	2,56 ^A	32,07 ^B	20,49 ^{AB}	4,50
Hierro ³	-147,97	-379,39	-929,95	-76,16	-338,47	111,84
Manganeso ³	-30,98	-28,14	-39,36	-198,20	-106,05	3,43
Zinc ³	-166,18	-126,66	-185,75	-198,20	-106,05	30,09

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

3 No analizado estadísticamente.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 26 Efectos de la utilización de BAL o β -glucanasa en el alimento o en el agua de bebida sobre la retención de cenizas y minerales en pollos (Exp 2)

	Refe- rencia	Tratamientos ¹ (cebada T. d'Union)				
		N.S.	B. sub	L. aci+ S. fae	β -Glu	ES ²
Cenizas	28,08	22,90	20,65	26,24	26,48	2,27
Calcio	64,34 ^B	53,64 ^A	58,38 ^{AB}	55,69 ^A	54,21 ^A	2,18
Fósforo	40,44	41,82	44,96	43,64	44,20	1,36
Magnesio	64,74	64,22	63,85	65,04	65,61	1,05
Potasio	2,61	1,96	-5,44	3,04	-0,03	2,33
Sodio	65,56 ^{AB}	73,73 ^B	67,65 ^B	75,33 ^B	53,90 ^A	3,17
Cobre	21,73	24,43	29,00	18,41	31,12	3,30
Hierro ³	-132,17	-269,70	-115,39	-366,03	-115,39	171,03
Manganeso ³	-38,12	-61,18	-56,99	-69,51	-52,05	4,85
Zinc ³	-179,54	-225,59	-318,19	-402,35	-151,54	23,97

1 N.S: No suplementado, B.sub: *B. subtilis* en el pienso, L.aci+S.fae: *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida, β -Glu: β -glucanasa en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

3 No analizado estadísticamente.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

Tabla 27 Efectos de la utilización de BAL en el alimento sobre la retención de cenizas y minerales en pollos Exp 3

	Tratamientos ¹ (cebada T. d'Union)				
	N.S.	B.cer	S.fae	L.bul+ S.the+ B.bif	ES ²
Cenizas	36,18	37,46	34,97	35,35	1,41
Calcio	40,61 ^a	50,04 ^b	49,74 ^b	42,44 ^{ab}	2,30
Fósforo	41,42	40,85	39,01	37,95	1,70
Magnesio	53,55 ^a	60,13 ^b	58,88 ^b	51,20 ^a	1,25
Potasio	15,04 ^{ab}	20,62 ^b	10,15 ^a	8,99 ^a	2,35
Sodio	36,47	53,52	47,86	38,43	6,24
Cobre	13,63 ^{AB}	28,57 ^b	18,90 ^{AB}	3,43 ^a	3,92
Hierro	29,44 ^a	45,00 ^b	31,19 ^a	32,97 ^a	2,36
Manganeso ³	-25,40	-5,65	-10,15	-12,56	3,03
Zinc ³	-172,81	-176,17	-97,62	-170,58	18,01

1 N.S.: No suplementado, B.cer: *B. cereus* en el pienso, S.fae: *S. faecium* en el pienso, L.bul+S.the+B.bif: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso.

2 Error estándar de las medias.

3 No analizado estadísticamente.

a,b; A,B Letras índice distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente).

los experimentos 1 y 2 y del Mg y Zn del experimento 3 no se sometieron a análisis estadístico.

La adición de BAL a las dietas que contenían las dos variedades de cebadas tuvo efectos diversos. Así, cuando la dieta contenía cebada Alpha el empleo de *B. subtilis* (Tabla 25) modificó significativamente los valores de retención de cenizas y K ($p < 0,01$).

La utilización de BAL en la dieta con cebada Trait d'Union comportó las siguientes modificaciones: el *B. cereus* y el *S. faecium* (Tabla 27) incrementaron la retención del Ca ($p < 0,01$). Asimismo, el *B. cereus* aumento los valores de retención del Fe ($p < 0,05$).

La mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* (Tablas 25 y 26) no modificó la retención de cenizas o minerales mientras que la combinación *L. bulgaricus* + *S. termophilus* + *B. bifidum* (Tabla 27) originó una disminución en la retención del Mg ($p < 0,01$).

V.- DISCUSSION

V.- DISCUSION

5.1.- Contenido de β -glucanos en cultivares de cebada del Centro y Sur de España

El contenido en β -glucanos totales de los 13 cultivares de cebada se situó entre el 2,20% y el 4,86%, correspondiendo el valor inferior al cultivar Alpha, cosechado en la localidad de Alcubillas (Ciudad Real) y el más elevado al cultivar Oasis, cosechado en la localidad de Corral de Almaguer (Toledo). En general, en las cebadas cultivadas en las zonas Centro y Sur de España, el contenido medio en β -glucanos parece estar situado en torno al 3,8%, con un coeficiente de variación del 15%.

Para las cebadas de invierno, el valor medio se situó sobre el 3,4% (c.v. 18%) y para las cebadas de primavera, el contenido analizado fue un 11,7% superior, llegando a alcanzar el 4,0% del total del grano (c.v. 11%).

Aman y Hesselman (1985) obtuvieron valores más bajos en cebadas de primavera cultivadas en Suecia, cuyo contenido fue del 3,6%. Sin embargo, en un estudio posterior, Aman y Graham (1987), analizando el contenido en β -glucanos de cebadas también cultivadas en Suecia pero sin distinguir el ciclo de cultivo, hallaron que el contenido medio para esas cebadas era superior en un 4,4% al obtenido por nosotros para la media de todos los cultivares analizados.

De estos datos parece desprenderse que, para una misma estación del año, se aprecia un contenido inverso entre las cebadas cultivadas en Suecia y las del Centro y Sur de España, de manera que en estas zonas las cebadas que se desarrollan en la estación de invierno contienen menos β -glucanos que aquellas de primavera, mientras que en Suecia sucede lo contrario.

Las causas que influyen en el contenido en β -glucanos no están totalmente aclaradas. Estudios de Aastrup (1979a y b) y Hesselman y Thomke (1982) sobre viscosidad y Newman y Newman (1988) sobre β -glucanos indican una clara influencia del tipo de cultivar y del clima. Este último factor influiría en dos aspectos, tanto a escala temporal como a escala geográfica, de manera que el contenido medio de un cultivar determinado puede variar de unos años a otros o de unas zonas de cultivo a otras.

Nuestra discusión y comentarios han de tener en cuenta el carácter que supone la limitación en las muestras para este análisis inicial ya que, aunque el número de variedades puede ser indicativo de las cebadas cultivadas en las zonas de estudio, sólo se refieren a un año de recolección. Para estas muestras se halló una mayor proporción en el contenido total de β -glucanos en las cebadas de primavera frente a los cultivares de ciclo de invierno, lo que demuestra que, independientemente de otros factores climatológicos, edáficos, etc, es el cultivar el que primeramente determina el contenido en β -glucanos. Más aún, la influencia del clima local de la zona de cultivo no se ha observado, ya que no se detectaron diferencias en el contenido entre cebadas cuando estas se estudiaron para el factor local.

5.2.- Composición químico-bromatológica de los cultivares de cebada empleados en los experimentos

El estudio de los resultados analíticos de los dos cultivares de cebada vienen a indicarnos resumidamente las siguientes características en su composición químico-bromatológica.

En primer lugar, es de destacar el alto contenido en PB del cultivar Trait d'Union, que ha sido del 17,21% sobre s.s. y que representó un 18% más que el cultivar Alpha. Ambas cebadas se cosecharon el mismo año y en la misma zona. El citado valor de 17,21% para el cultivar Trait d'Union se ha situado superior al máximo publicado por García de la Calera et al. (1988a y b) para 79 muestras de cebada cervecera de toda España peninsular y que fue del 14,93%. Pérez-Vendrell et al. (1987), por el contrario, encontraron cantidades superiores al 17,21% en algunas variedades de la cosecha de 1986, comprobando la alta variabilidad existente. La variabilidad debida a la localidad superaba incluso la correspondiente al tipo de cultivar.

Además de un mayor contenido en PB, el cultivar Trait d'Union parecía presentar mejor perfil aminoacídico. Así, aún cuando los porcentajes sobre proteína total para metionina y lisina de ambos cultivares entran dentro de los márgenes de variación que obtienen otros autores (El-Negoumy et al., 1979; Green et al., 1987; Pettersson et al., 1987), ha sido mayor el contenido en metionina (8% más) y lisina (20% más) de la cebada Trait d'Union. No obstante los valores de histidina fueron un 27% menos en dicho cultivar que en la cebada Alpha.

Con referencia al contenido en β -glucanos, el cultivar Trait d'Union, con un porcentaje del 4,35, ha superado en un 35% el contenido del cultivar Alpha. Esta diferencia ha sido una de las razones de la elección de estos dos cultivares, ya que uno de los objetivos de la Memoria era disponer de dos cebadas con distinto contenido en β -glucanos.

Por otra parte, en los estudios sobre β -glucanos se ha de tener en cuenta el porcentaje que sobre el total de estos polisacáridos representa la fracción soluble, dado que es el componente que interacciona con las moléculas de agua, originando la viscosidad (Aastrup, 1979a; Hesselman et al. 1981). La cebada Trait d'Union contenía 2,71% de β -glucanos solubles, representando el 62% sobre los β -glucanos totales del grano. En la cebada Alpha el contenido de β -glucanos solubles ha sido menor (1,93%) pero semejante en su proporción respecto de los totales (60%). McClear y Glennie-Holmes (1985) han constatado valores del 1,02 al 1,61% de β -glucanos solubles (22 al 33% del total de la fracción) para cebadas cultivadas en Australia, mientras que Aman y Graham (1987) obtuvieron mayores porcentajes, 1,3 a 3,4% (55% de valor medio del total de β -glucanos) para cebadas cultivadas en Suecia y 1,6 a 4% (49% de promedio sobre β -glucanos totales) para el caso de cultivares del medio oeste americano. Los valores de la fracción soluble en los cultivares utilizados por nosotros estarían, por lo tanto, próximos a los datos de Aman y Graham para las cebadas cultivadas en Suecia.

El mayor contenido en energía bruta del cultivar Alpha (4% más), pudiera atribuirse a que en esta cebada el porcentaje de almidón y extracto etéreo ha sido mayor, mientras que la fibra

bruta fue menor. Estos resultados coinciden con los señalados por Thomsen (1977) y Blum et al. (1980) que encontraron una relación inversa entre el contenido de proteína y de glúcidos digestibles en diversas variedades de cebadas analizadas.

Desde el punto de vista de utilización de la cebada en alimentación animal, y a partir de su composición químico-bromatológica y de aminoácidos, se puede decir que los dos cultivares tienen un valor nutritivo potencial aceptable y similar para su empleo en alimentación animal. De cualquier forma, es de destacar la mayor riqueza en materias nitrogenadas y el equilibrio en aminoácidos del cultivar Trait d'Union y la mayor energía y menor contenido de β -glucanos en el caso de la cebada Alpha.

5.3.- Composición químico-bromatológica de las dietas experimentales

Con una composición bromatológica equilibrada en las diversas sustancias nutritivas, las dos dietas basales y la de referencia tienen similares porcentajes en el contenido de las fracciones del alimento. Se puede indicar el ligero valor superior de PB de la dieta basal Trait d'Union (4% más) debido al alto contenido proteico de dicha cebada. La EM calculada para las dietas fue aproximadamente de 3000 kcal/kg de pienso. El mayor valor energético del grano de maíz frente a la cebada, debido a su superior contenido en extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno (Bhatty y Rosnagel, 1981), se correspondió con un mayor contenido en almidón de la dieta referencia (20% más respecto a las basales), hecho que se ha equilibrado con un

superior nivel de extracto etéreo proveniente de la inclusión al 7,15% de manteca de cerdo en las dietas basales y que supuso el doble del valor de extracto etéreo de la dieta referencia.

El contenido de FB y FND ha sido notoriamente mayor en las dietas basales sin duda debido al contenido en fibra de la cebada.

Los β -glucanos de la dieta Trait d'Union supusieron un 26% más de los determinados en la dieta Alpha, guardando similar relación con el contenido que presentaron las respectivas cebadas empleadas.

Respecto al contenido aminoacídico de las tres dietas, ha habido cierta variación en la proporción con que aparecen los diferentes aminoácidos. En líneas generales se puede suponer la dieta referencia más completa al tener mayor contenido de aspártico, serina, alanina, metionina, leucina, tirosina, lisina y arginina. Centrándonos en los aminoácidos esenciales para pollos de carne (De Blas et al. 1987), la dieta referencia contenía 25% más de lisina y 66% más de metionina que la dieta Alpha y 4% más de lisina y 43% más de metionina que la dieta Trait d'Union.

5.4.- Efectos de los distintos microorganismos y de la β -glucanasa sobre el crecimiento y eficiencia nutritiva

Los resultados expuestos en las Tablas 14, 15 y 16 vienen a demostrar la dificultad de interpretar los efectos derivados del empleo de bacterias ácido-lácticas y β -glucanasa. Por un

lado, cuando se utilizó la cebada Alpha, únicamente la mezcla de *L. acidophilus* + *S. faecium* supuso una mejora significativa de la ganancia en peso y de la eficiencia nutritiva a la 1ª y 3ª semanas de edad. Es cierto que al final del período experimental se observó una tendencia clara a incrementar la ganancia en peso y el consumo de pienso en las aves del grupo a cuya dieta se adicionó *B. subtilis*, pero ha de tenerse en cuenta que las diferencias no fueron significativas y que la utilización de β -glucanasa no dio lugar a variaciones en la ganancia en peso o el índice de transformación.

Estos resultados difieren sensiblemente si analizamos los datos obtenidos para la cebada Trait d'Union. En este caso, la tendencia a mejorar la ganancia en peso parece evidente en todos los grupos de aves a cuya dieta se adicionaron los microorganismos o la β -glucanasa. Sin embargo, a diferencia del cultivar Alpha, en el que la mezcla de *L. acidophilus* + *S. faecium* determinó diferencias significativas a la 1ª semana de edad, estas diferencias no se manifestaron para la cebada Trait d'Union. La adición de β -glucanasa, por el contrario, dio lugar a diferencias significativas frente al grupo testigo, superando en algunos casos los valores obtenidos en el crecimiento de las aves del grupo de referencia.

En el experimento nº 3, en el que tanto el peso inicial como el peso final de las aves fueron inferiores al consignado en el experimento nº 2, los resultados al final de la 4ª semana de edad demostraron que los distintos microorganismos mejoraron activamente la ganancia en peso de las aves.

El hecho de que las diferencias en la ganancia en peso o en la eficiencia nutritiva, observadas en algunos grupos experimentales, alcanzaran un porcentaje elevado (15% sobre el testigo), sin que estas diferencias fueran significativas, podría atribuirse al número limitado de replicaciones (4 para todos los tratamientos y experimentos), obligado a su vez por el tamaño de las instalaciones.

5.4.1.- *B. subtilis* IP5832

Los resultados obtenidos cuando se adicionó el *B. subtilis* al pienso permiten comprobar que su efecto fue mayor cuando se utilizó la cebada Trait d'Union. Para esta cebada las diferencias en la ganancia en peso fueron significativas en la 1ª y 2ª semana, con aumentos medios del 15% frente al grupo testigo. Estas mejoras descendieron al 9% para el cultivar Alpha. La mejora en la ganancia en peso resultante de la adición del *B. subtilis* al pienso se correspondió con valores similares, e incluso superiores, a los del maíz (grupo referencia).

Dado que en la bibliografía disponible no existen datos sobre la utilización del *B. subtilis* en pollos, a pesar de que la información técnico-comercial es abundante, no es posible establecer relaciones o comparar nuestros resultados. Únicamente disponemos del trabajo de Jiraphocakul et al. (1990) sobre el empleo del anterior microorganismo en un pienso para pavos, quien observó mejoras en el crecimiento de los pavipollos y la eficiencia del pienso en un 2% sin llegar a alcanzar una significación estadística. Hay que precisar que en este caso la dieta era maíz-

soja mientras que en nuestro trabajo todo el cereal utilizado es cebada.

5.4.2.- *B. cereus* CCT953

La inclusión de *B. cereus* en el pienso Trait d'Union determinó una mejora del 17% en el crecimiento de las aves. Este incremento se produjo principalmente en la última semana, coincidiendo con una mayor ingestión de pienso (22%) y una mejora no significativa de la eficiencia nutritiva (7%).

La bibliografía consultada ofrece escasos datos sobre la utilización del *B. cereus* como aditivo de los alimentos para aves. Tortuero et al. (1990a y b) estudiaron comparativamente los efectos del *B. cereus* CCT953 frente a la virginiamicina en dietas para pollos y lechones en los que se había sustituido el maíz por cebada. En el primer caso, si bien observaron una tendencia hacia una mayor ganancia en peso y eficiencia nutritiva, sólo comprobaron diferencias significativas en el consumo de pienso en pollos de 1 a 28 días de edad. A los 46 días de edad no encontraron diferencias significativas así como tampoco en lechones de 45 días (1990b).

5.4.3.- *S. faecium* CL15

La mejora significativa de la ganancia en peso de los pollos a cuya dieta (cebada Trait d'Union) se adicionó la cepa CL15 de *S. faecium*, llegó a alcanzar valores del 16% y 20% en la 2ª y 4ª semana de edad, respectivamente, obteniéndose incrementos de peso para el total del período experimental del 14% en comparación con

el grupo testigo. Si analizamos el consumo de pienso semanal podemos comprobar una relación directa entre consumo y ganancia en peso. Esta relación se hizo más patente en la 4ª semana en la que las diferencias en el consumo fueron del 19%. Considerando el experimento en su totalidad, este valor representó el 9%. El menor índice de transformación, por el contrario, se obtuvo en la 1ª semana. En las siguientes sólo se pudo constatar una tendencia, progresivamente menor, a mejorar la eficiencia nutritiva del pienso cebada Trait d'Union.

Aún cuando la bibliografía consultada no ofrece datos sobre la relación *S. faecium* y valor nutritivo de la cebada, algunos autores han intentado comprobar el efecto de distintas cepas de este microorganismo como estimulantes del crecimiento de los pollos. Así, Owings et al. (1990) utilizando pollos de 1 a 21 o de 1 a 36 días de edad, alimentados con una dieta maíz-soja adicionada de *S. faecium* cepa M74, no encontraron efectos sobre el peso ni el índice de transformación. Otros autores (Meluzzi et al., 1986), por el contrario, utilizando cultivos de otras especies de estreptococos (*S. lactis* y *S. thermophilus*) obtuvieron mejoras en el peso y eficiencia nutritiva a los 30 y 60 días de edad, comprobando al mismo tiempo que el número de coliformes cecales disminuía.

5.4.4.- *L. acidophilus* NCL84 + *S. faecium* NCS97

A diferencia de los resultados obtenidos con el *B. subtilis* o la β -glucanasa, cuyo efecto positivo fue mayor cuando se utilizó la cebada Trait d'Union, la adición de una mezcla de *L. acidophilus* y *S. faecium* al agua de bebida supuso una mejora de

la ganancia en peso de las aves alimentadas con la dieta cebada Alpha, siendo las diferencias significativas en la 1ª y 3ª semana de edad, con incrementos del 19% y 25%, respectivamente. Considerado el período en su conjunto, la mejora obtenida fue del 9% con relación al grupo testigo. Al sustituir en la dieta la cebada Alpha por Trait d'Union, dicho incremento se redujo al 5%. Con relación al consumo de alimento, sólo pudo constatarse una tendencia a aumentar éste cuando se incrementaba la ganancia en peso (12% y 8% en la 1ª y 3ª semana y 5% para el total del período).

Si bien los resultados obtenidos por nosotros no pueden ser motivo de comparación con los de aquellos autores que utilizaron en sus trabajos dietas maíz-soja, el efecto favorable de cepas de BAL no siempre ha sido obtenido por otros investigadores.

Así, Tortuero (1973) encontró que el incremento diario de peso de los pollos desde el 5º al 11º día de edad era un 10% mayor cuando se adicionaba una cepa de *L. acidophilus* al agua de bebida. Estos resultados coinciden con los nuestros para la 1ª semana de edad de las aves que recibieron la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida y cuya dieta contenía la cebada Alpha. De acuerdo con los valores de digestibilidad de la grasa obtenidos por Tortuero, el incremento en la ganancia en peso en la primera semana de edad podría estar relacionado con una inhibición parcial del síndrome de malabsorción de la grasa (que aparece en los pollos entre los 4 y 8 días de edad).

Resultados similares a los nuestros son los consignados por Dilworth y Day (1978), especialmente cuando el contenido de

metionina+cistina y lisina de las dietas era subóptimo. Crawford (1979), por el contrario, obtuvo únicamente ligeras mejoras en el crecimiento de las aves a las 8 semanas de edad. Al contrario, Fethier y Miles (1987), utilizando Probios (producto comercial formado por cepas de *L. acidophilus* y otros lactobacilos no identificados) no observaron mejora alguna en el peso de las aves a la 3ª semana de edad.

5.4.5.- *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum*

La utilización de una mezcla de *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en el pienso (cebada Trait d'Union) determinó resultados inferiores a los obtenidos con el *B. cereus* o el *S. faecium*. No obstante, a la 4ª semana de edad se comprobaron mejoras significativas en la ganancia en peso y consumo de pienso del orden del 25% y 16%, respectivamente, correspondiéndose con mejoras apreciables en la eficiencia nutritiva del pienso (8%).

Si bien no existen datos comparables, en el trabajo ya citado de Meluzzi et al. (1986), estos autores utilizaron por separado cultivos de *S. thermophilus* y de bifidobacterias (mezcla de *Bifidobacterium animalis*, *B. globosum* y *B. pullorum* aislados del intestino del pollo). Al *S. thermophilus* nos hemos referido anteriormente. El empleo de las bifidobacterias (específicas de la flora intestinal del pollo y administradas en el agua de bebida), no modificó el crecimiento ni la eficiencia nutritiva a los 21, 35 o 49 días de edad de las aves.

El hecho de que, en general, los microorganismos utilizados (en especial el *S. faecium*) parezcan mostrar su mayor efectividad en el crecimiento de los pollos durante las primeras semanas de vida pudiera estar relacionado con las modificaciones o cambios que tienen lugar en la flora intestinal durante este período y que afectan de forma especial a la implantación de gérmenes potencialmente patógenos: enterococos, coliformes, clostridios (Smith, 1965, Mead y Adams, 1975, Kimura, et al. 1983, Fuller, 1984)².

Las diferencias entre nuestros resultados y los de otros autores pueden estar motivadas tanto por la cepa de bacteria elegida como en la dieta empleada, si bien esta última parece tener menor efecto, (Fuller, 1989). De acuerdo con los resultados obtenidos con la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* podría pensarse que la mayor efectividad de estos microorganismos con la cebada Alpha (baja en β -glucanos) podría establecerse a través de un mecanismo de acción distinto a los consignados para el *B. subtilis*, *B. cereus* o β -glucanasa. De una parte, es posible que la administración conjunta de BAL permita una mayor acidificación del Ph intestinal, con inhibición de coliformes. Pero también es probable que la diferente respuesta sea consecuencia de un equipo enzimático distinto según el microorganismo estudiado.

5.4.6.- β -glucanasa

². A pesar de haber realizado en esta parte experimental de la tesis análisis microbiológicos del contenido cecal, hemos creído oportuno no incluir estos resultados por considerarlos insuficientes. Sin embargo, se pudieron constatar ciertos cambios en la microbiología de los ciegos.

De conformidad con los resultados que hemos obtenido para la β -glucanasa, hemos detectado mayor respuesta de los pollos para el cultivar Trait d'Union, más rico en β -glucanos. La mejora en el crecimiento de las aves fue del 11%, 7% para el consumo de pienso y 3% para el índice de transformación. Sin embargo, con el cultivar Alpha se consiguieron efectos mucho menores (5% y 3% para la ganancia en peso y consumo de pienso, respectivamente) y en ningún caso significativos.

Resultados similares a los obtenidos por nosotros han sido consignados anteriormente por Jensen et al. (1957), Willingham et al. (1959, 1960), Burnett (1966), Herstad y McNab (1975), Hesselman et al. (1981, 1982), Hijikuro (1983), Hesselman y Aman (1986), Broz y Frigg (1986, 1990).

Es oportuno, sin embargo, precisar que la forma de presentación del pienso influye en la mejora que se obtiene cuando se adiciona β -glucanasa. Así, piensos en forma de harina suelen determinar incrementos del 4 al 10% (Hesselman et al. 1982; Broz y Frigg, 1990) mientras que con la granulación los aumentos se reducen al 2-4,5% ((Elwinger y Saterby, 1987; Wiedmer y Völker, 1989; Brufau et al. 1991)). Si nos referimos a la eficiencia nutritiva del pienso, los resultados que hemos comprobado son inferiores a obtenidos por los autores anteriormente reseñados.

No puede olvidarse, de otra manera, que el tipo de cultivar empleado también influye en la respuesta sobre el crecimiento de las aves. Esta influencia puede ser motivada por algunos factores como son la cantidad y la disposición estructural de los β -glucanos. Así, Newman y Newman (1987) adicionando β -glucanasa al

pienso, obtuvieron incrementos del 6% de ganancia en peso y 7% en la eficiencia nutritiva cuando emplearon cebadas normales y del 9% y 10% para cebadas desnudas. El efecto de la β -glucanasa fue mayor en las cebadas desnudas que en las normales. Las razones expuestas por estos autores, cuyos resultados coinciden con los nuestros, tanto a los 21 como a los 28 días de edad, estarían relacionadas con el mayor contenido en β -glucanos de las cebadas desnudas, a la vez que éstos serían más susceptibles de ser degradados por la enzima adicionada a los piensos. En este sentido, y como veremos más adelante, la degradación de los β -glucanos debida al empleo de enzimas ha sido mayor, tanto en porcentaje absoluto como relativo, al valor de degradación, cuando la cebada de la dieta era Trait d'Union.

5.5.- Influencia del empleo de las BAL y la β -glucanasa sobre las medidas viscerales

La adición de BAL, de acuerdo con lo especificado en el apartado de resultados, parece demostrar en la mayoría de los casos un efecto apreciable sobre la longitud relativa del ileon de los pollos. Es conocido que la inclusión de polisacáridos viscosos, bien en forma aislada o conjuntamente produce cambios en el tamaño del intestino de los pollos y ratas. Autores como Ikegami et al. (1984, 1990) han comprobado que la adición de estos polisacáridos, de carácter indigestible, a dietas para ratas determinaba un aumento significativo en el peso del intestino. Los resultados obtenidos por nosotros se aproximan a los reseñados por Hesselman y Aman (1986) quienes observaron una reducción de la longitud del intestino de los pollos cuando adicionaron β -glucanasa a dietas con cebada comprobando, como en

nuestro estudio, que la disminución era más acusada cuanto mayor era la viscosidad de la cebada empleada. En la misma línea se encuentran los resultados de Pettersson y Aman (1988). Estos autores, empleando un preparado enzimático de β -glucanasa y xilanasa en dietas teniendo como cereal base el centeno, cuyo contenido en pentosanas produce alta viscosidad intestinal (Antoniou et al. 1981; Fengler, 1986) y menor valor nutritivo del pienso (Misir y Marquardt, 1978, Marquardt et al., 1979), observaron que la longitud intestinal de pollos era menor.

Ahora bien, no todas las BAL tuvieron idénticos efectos sobre el intestino. Así, el *B. subtilis* o la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* tuvieron menor influencia, siendo únicamente significativas las diferencias para la cebada Alpha (7% en el caso del *B. subtilis* y 6% para la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium*). Por el contrario, tanto el *B. cereus* como el *S. faecium* determinaron una clara reducción de la longitud ileal (13% menos).

La disminución del tamaño del ileon podría ser consecuencia de los cambios en la flora intestinal de los pollos y su acción metabólica subsiguiente. Estos cambios podrían reflejarse histológicamente en una menor hiperplasia en las células del epitelio intestinal y que suele aparecer cuando se utiliza cebada.

Independientemente de este efecto consignado para las BAL, se ha demostrado que el uso de antibióticos en piensos disminuye el tamaño del intestino, probablemente por su acción sobre la flora intestinal (Stutz et al., 1983; Stutz y Lawton, 1984).

A nivel de ciegos no se ha encontrado variación significativa en la longitud relativa. Tortuero (1973) comprobó que la alteración de la flora bacteriana cecal a causa de la dieta o de la utilización de concentrados de lactobacilos producía una modificación del tamaño de los ciegos de las aves, de manera que la sustitución de una dieta práctica por una sintética o la adición de *L. acidophilus* al agua de bebida se acompañaba de la reducción del peso de los ciegos de pollos de 7 y 12 días de edad. De igual manera, Gordon (citado por March, 1979) obtuvo diferencias en el tamaño de los ciegos de pollos axénicos frente a convencionales, mientras que Ford (citado por Coates y Fuller, 1977) no encontró diferencias.

Aún cuando nosotros no hemos comprobado cambios en el peso relativo del hígado de las aves para las distintas BAL o la β -glucanasa, ciertos autores como Tahir et al. (1983) observaron que el hígado de pavipollos era menor en las aves a cuyo agua de bebida se adicionaron *L. acidophilus*. Posteriormente, Furuse y Yokota (1984) comprobaron una reducción, tanto en el peso absoluto como relativo del hígado de pollos gnotobióticos frente a convencionales a los 14 días de edad. Las modificaciones de la flora intestinal, sin embargo, no parecen influir en el peso de dicho órgano en pollos si tenemos en cuenta los resultados de Stutz et al. (1983) con la bacitracina. Conviene reseñar en este punto que la sustitución del maíz por el cultivar Alpha originó un aumento en el peso relativo del hígado del 17%. Las razones de este hecho parecen estar relacionadas con factores diversos (producción de AGV, metabolismo de los lípidos, etc).

5.6.- Efectos de las BAL y la β -glucanasa sobre la energía metabolizable, la digestibilidad del almidón, grasa, fibra, proteína bruta y aminoácidos, degradabilidad de los β -glucanos y retención de cenizas y minerales

5.6.1.- Energía metabolizable

De las distintas bacterias utilizadas, únicamente el *B. cereus* supuso un aumento en los valores de EM de la dieta conteniendo cebada Trait d'Union. Esta mejora se tradujo en incrementos del 3%. La adición de β -glucanasa determinó, del mismo modo, un aumento del 7%, aproximándose los valores de EM a los de la dieta referencia. No hubo variaciones cuando se empleó el cultivar Alpha ni tampoco cuando en la dieta con cebada Trait d'Union se utilizaron el *B. subtilis*, *S. faecium* o las mezclas *L. acidophilus* + *S. faecium* y *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum*.

El menor contenido en β -glucanos puede explicar por qué el pienso con cebada Alpha, no mejoró el valor de EM cuando se utilizaron *B. subtilis*, la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* o β -glucanasa, mientras que con el cultivar Trait d'Union se obtuvo la respuesta favorable indicada.

5.6.2.- Digestibilidad del almidón

De conformidad con los resultados obtenidos, la adición de *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. faecium* o *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* no determinó variaciones en la digestibilidad del almidón de la cebada. Sin embargo, cuando se empleó cebada

Alpha y se adicionaron *L. acidophilus* + *S. faecium* al agua de bebida se apreció una mejora significativa del 2%.

En la bibliografía consultada no aparecen datos sobre la influencia de los aditivos biológicos en la digestibilidad del almidón. No obstante, algunos autores (Champ et al., 1981) han mostrado mediante microscopía electrónica que la morfología de los gránulos de almidón de maíz presentaba mayor degradación tanto a nivel de buche como de heces en los pollos que tenían una flora intestinal normal frente a aquellos otros libres de gérmenes. En el contenido intestinal y heces de pollos monoinfectados con cepas autóctonas de lactobacilos aislados del buche, los gránulos de almidón ofrecían un nivel intermedio de rotura. Estas cepas de lactobacilos estarían dotadas de capacidad amilolítica (Szytli, 1978).

La ausencia de respuesta obtenida en nuestros estudios cuando se adicionaron bacterias al pienso podría deberse a factores diversos como son el tipo de almidón de la cebada y su estructura, más o menos difícil de hidrolizar; la escasa capacidad amilolítica de algunos de los microorganismos utilizados o los cambios en el Ph intestinal que pudieran ocasionar menor actividad de la amilasa pancreática de las aves.

El efecto de la utilización de β -glucanasa fue más manifiesto en el sentido de que el aumento de la digestibilidad del almidón se apreció tanto con el cultivar Alpha como con el Trait d'Union, con mejoras paralelas en la digestibilidad de la materia seca para el último cultivar. Estos resultados han sido similares a los obtenidos por Hesselman y Aman (1986) para cebadas con alta

y baja viscosidad y Edney et al. (1989) para cebadas no desnudas. Estos últimos autores, junto con Classen et al. (1985), utilizando cebadas desnudas, y Pettersson y Aman (1989) con dietas conteniendo centeno y trigo observaron incrementos superiores a los obtenidos por nosotros. Este hecho podría interpretarse como consecuencia de una mayor accesibilidad de la amilasa pancreática a los gránulos de almidón debido a la rotura previa de la pared de las células del endospermo por hidrólisis de los β -glucanos a causa de la enzima adicionada en el pienso.

5.6.3.- Digestibilidad de la grasa

La adición de *S. faecium* al pienso con cebada Trait d'Union supuso un 5% de mayor digestibilidad de la grasa sobre el grupo testigo. El resto de las BAL no dio lugar a diferencias significativas. Algunos autores admiten que la flora intestinal puede modificar la cantidad y tipo de ácidos grasos que son absorbidos (Hutanen y Pensack, 1965; Boyd y Edwards, 1967; Tortuero, 1973). A este respecto, Demarne et al. (1970, 1972) comprobaron que en animales libres de gérmenes se produce una mayor absorción de ácidos grasos de cadena larga, especialmente palmítico y esteárico y Cole y Boyd (1967) que la absorción de la grasa disminuía en pollos infectados con bacterias patógenas.

Por otra parte se ha demostrado que alguna cepas de *L. acidophilus* (Gilliland y Speck, 1977; Gilliland, 1989) y de *S. faecium* (Coates et al, 1981; Campbell et al., 1983a y b; Fuller, 1984) pueden deconjugar ácidos biliares. De este modo se interferiría la formación de micelas, cuyos resultado sería una menor absorción de los lípidos.

La adición de β -glucanasa, que produjo un 7% de mejora en la digestibilidad de la grasa para la cebada Trait d'Union, sólo dio lugar a una mejora no significativa del 3% con la cebada Alpha. En este sentido, Edney et al. (1989) han obtenido valores más elevados en la digestibilidad de la grasa en pollos de 21 días de edad cuando emplearon β -glucanasa en dietas con cebada desnuda y 8% de grasa. La β -glucanasa, disminuyendo la viscosidad, favorecería la formación de micelas y la acción de la lipasa pancreática.

5.6.4.- Fibra neutro detergente

Si analizamos las tablas correspondientes, se comprueba que el empleo de microorganismos o de β -glucanasa no produjo variaciones significativas en los valores de digestibilidad de la FND. A pesar de ello, si la comparación se realiza en términos de porcentaje, existen altas diferencias asociadas también a elevados valores de error estándar de las medias, por lo que la ausencia de significación estadística ha de atribuirse a la alta variabilidad en los resultados. Es de destacar el diferente comportamiento de los tratamientos frente al grupo testigo, según la cebada empleada. Con el cultivar Alpha, los valores de digestibilidad parecían reducirse, al contrario, para el cultivar Trait d'Union, la tendencia fue de mayor digestibilidad de la FND.

Si los resultados encontrados difieren de una cebada a otra hemos de pensar que el conjunto de fracciones que integran la pared de las células vegetales, y que se engloban bajo el término de FND (Van Soest y McQueen, 1973), ha de diferir de uno a otro

cultivar en su composición, dado que los valores obtenidos para la FND en ambas dietas con cebada era bastante similar (algo más elevado en el caso de la dieta con cebada Trait d'Union). La distinta naturaleza de la FND explicaría igualmente el hecho de que tanto los microorganismos utilizados, como la β -glucanasa, no sólo no influyeran positivamente en la digestibilidad de la FND de la cebada Alpha, sino que incluso ésta fuera menor, llegando a un descenso del 16% cuando se empleó la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium*.

Por el contrario, para la cebada Trait d'Union se encontraron valores de digestibilidad más elevados, siendo precisamente el grupo tratado con la mezcla anteriormente reseñada el que presentó el mayor incremento (18%).

En este aspecto, se sabe que la digestibilidad de la fibra es nula o casi nula en pollos axénicos, si bien existe una parte que es degradada por la flora del intestino (Theander y Aman, 1979; Hedge et al., 1982; Cummings et al., 1986; Cummings y Englyst, 1987). En especial, la fracción insoluble de la fibra es muy poco digerida por la flora de los ciegos mientras que la fibra soluble parece serlo casi en su totalidad (McNab, 1973). Esta diferente actividad microbiana puede ser la causa de los distintos resultados en la digestibilidad de la fibra obtenidos para uno u otro cultivar con los distintos tratamientos.

5.6.5.- β -glucanos

De acuerdo con los resultados obtenidos, la degradabilidad de los β -glucanos ha sido diferente de unos grupos a otros. Sin

embargo, tan sólo en el experimento 3, en el que el error estándar fue menor y el incremento en los valores de degradabilidad mayor, se detectó una mejora significativa cuando se adicionó *B. cereus* al pienso.

La dificultad en la determinación precisa del contenido de β -glucanos en las muestras de excretas posiblemente haya sido la causa de los altos valores de error estándar obtenidos. Esta dificultad analítica puede ser debida al alto nivel de polisacáridos no amiláceos hidratados (β -glucanos, pentosanas) y de azúcares simples en las muestras de excretas lo que daría lugar a variación en los datos entre límites más amplios que para las cebadas o los piensos. Tanto el método enzimático adoptado por nosotros (Aman y Graham, 1987) como el método fluorimétrico de Jensen y Aastrup (1981), empleado por Hesselman y Aman (1986), dan valores de error estándar en las medidas de degradabilidad de los β -glucanos mayores que para los análisis de digestibilidad de otras sustancias nutritivas. Por esta razón, las posibles diferencias encontradas en los datos correspondientes a las aves en cuya dieta se adicionaron microorganismos o β -glucanasa, sólo pueden ser orientativas de cierta tendencia, no suficientemente contrastada, y que, sin embargo, parece estar relacionada con el cultivar de cebada empleado y el tratamiento administrado.

La utilización de las BAL ofrece respuestas variables según las cepas o estirpes bacterianas. Así, el *B. subtilis* o el *B. cereus* han mostrado una tendencia más clara a mejorar la degradabilidad de los β -glucanos que los lactobacilos, siendo, como ya hemos señalado anteriormente, significativo el incremento del 16% cuando se adicionó *B. cereus* al pienso. El efecto del *B. subtilis*

sobre la degradabilidad de los β -glucanos fue mayor para el cultivar Trait d'Union, mientras que la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida fue más positiva para la cebada Alpha. Estas diferencias son nuevos argumentos para avalar la hipótesis de partida sobre la posibilidad de desdoblamiento de los β -glucanos por parte del *B. subtilis* y del *B. cereus* merced a su equipo enzimático y que ha sido bien demostrada por Rickes et al. (1962) en el caso del *B. subtilis*. Es posible que en el futuro sea posible la realización de pruebas "in vitro" sobre degradación de los β -glucanos de la cebada que permitan prever la respuesta de las BAL estimulantes del crecimiento.

El empleo de β -glucanasa ha determinado efectos más consistentes que los obtenidos con los microorganismos, ya que para ambos cultivares de cebada se apreció una clara tendencia a aumentar la degradabilidad. Estos resultados con cebadas de diferente contenido en β -glucanos muestran una alta similitud con los determinadas por Hesselman y Aman (1986) para degradabilidad de los β -glucanos a nivel de colon en pollos de 19 días, cuando utilizaron en la dieta dos cultivares de cebada con diferente viscosidad. En este caso, las mejoras fueron más acusadas cuando dichos autores emplearon β -glucanasa con cebada de alta viscosidad frente a cebada de baja viscosidad.

Otro aspecto conveniente de resaltar es que la correlación entre los valores de degradabilidad de los β -glucanos, EM y digestibilidad de la materia seca, para los distintos experimentos ha sido relativamente alta. Así, los coeficientes de correlación calculados para la degradabilidad de los β -glucanos y la EMA han sido de 0,71, 0,83 y 0,86 en los diferentes experimentos, lo

que puede dar idea de la influencia del contenido en β -glucanos sobre el valor nutritivo de la cebada en piensos para aves.

Los coeficientes de correlación entre la degradabilidad de los β -glucanos y la digestibilidad de la materia seca para los diferentes experimentos, con valores de 0,91, 0,52 y 0,86, han sido levemente inferiores a los anteriores. La interpretación sería similar a lo reseñado para la EM, ya que además, y como es lógico suponer, una mayor digestibilidad de la materia seca aprecia una mayor digestibilidad en general de las diferentes sustancias nutritivas, lo que habrá de originar mayor valor de EM. Este último hecho también se pone en evidencia por los altos coeficientes de correlación determinados entre la EM y la digestibilidad de la materia seca (0,97, 0,90 y 0,90).

5.6.6.- Proteína bruta y aminoácidos

El estudio de la digestibilidad de la PB, en general, y de los aminoácidos, en particular, muestra algunos hechos importantes. Así, cuando en las dietas con cebada adicionamos los diferentes microorganismos, la respuesta observada supuso mejoras en la digestibilidad de la PB entre el 4 y el 6%. Con el *B. subtilis* se alcanzó el máximo incremento cuando la dieta contenía cebada Trait d'Union. Esta mejora hizo que se obtuvieran digestibilidades de la PB similares a las observadas en la dieta de referencia. Los efectos de la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* se reflejaron en una mayor digestibilidad de la PB (4 y 5% para las cebadas Alpha y Trait d'Union, respectivamente), mejorando incluso el valor correspondiente de la dieta de referencia. El *B. cereus*, por otra parte, determinó igualmente

un efecto positivo (4% más) cuando la dieta contenía cebada Trait d'Union.

La mejora significativa de la digestibilidad de la PB observada cuando se adicionó β -glucanasa a la dieta con cebada Alpha (5% sobre el testigo), fue ligeramente inferior cuando se empleó el cultivar Trait d'Union. Este efecto ya ha sido observado con anterioridad por Hesselman y Aman (1986), quienes comprobaron mejoras en la digestibilidad de la PB del orden del 34% al adicionar β -glucanasa a dietas con cebadas de alta y baja viscosidad. Una de las razones de que dichos autores obtuvieran mayores incrementos que los observados por nosotros ha de tener relación con los porcentajes más elevados de degradabilidad de los β -glucanos que encontraron al incluir la enzima en los piensos. Podría deducirse por lo tanto que existe una relación inversa entre contenido en β -glucanos y utilización de la proteína en dietas con cebada para pollos.

Si del análisis comparativo de los resultados sobre digestibilidad de la PB pasamos a comentar los valores obtenidos en los distintos grupos sobre la digestibilidad de los aminoácidos es fácil comprobar que existen diferencias entre los distintos tratamientos.

El *B. cereus* determinó un incremento medio del 10% en la digestibilidad de los aminoácidos de la cebada Trait d'Union. Similar efecto, pero de menor grado se constató con la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en la dieta con cebada Alpha. Por el contrario, cuando se empleó la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum*, la digestibilidad media de los

aminoácidos disminuyó en un 7% frente al testigo, con variaciones individuales entre el +3% y el -17%. Sin embargo, y como ya se ha indicado para la digestibilidad de la PB, cuando se adicionaron estos microorganismos a la dieta, se consignó un ligero aumento (2%) en esta.

Si bien el empleo de β -glucanasa incrementó un 5% la digestibilidad media de los aminoácidos, este aumento no fue significativo.

La relación flora intestinal y metabolismo de la proteína y de los aminoácidos en los monogástricos ha sido demostrada por Salter (1973), Mason (1980) y Bach Nudsen et al. (1982). En este sentido, las bacterias intestinales pueden actuar sobre la proteína indigestible (Nesheim y Carpenter, 1967), degradándola a aminoácidos y dando como productos de desecho el amoníaco y aminas. Estas sustancias pueden ser utilizadas posteriormente por otros microorganismos para la síntesis de aminoácidos no esenciales, si bien este es un mecanismo poco eficiente (Vanbelle, 1982). Lo que no cabe duda es que una parte del nitrógeno presente en las excretas tiene procedencia microbiana. Así, Parsons et al. (1982) encontraron que hasta un 25% del contenido de aminoácidos de las excretas de los pollos puede provenir de la flora intestinal que se elimina, lo que significa un apreciable efecto sobre el metabolismo de aminoácidos en el intestino grueso.

Cabe pensar que la utilización de cebada comporta cambios en la flora del intestino originada por la composición de la fibra y la presencia de los β -glucanos. Ghol y Ghol (1977)

comprobaron una disminución de velocidad en el tránsito intestinal debido a la viscosidad creada por el uso de cebada. Este hecho, especulan Salih et al. (1991), disminuiría la remoción de los microorganismos y aumentaría por tanto la población bacteriana intestinal. La viscosidad puede ser reducida por la acción directa demostrada de la β -glucanasa incluida en el pienso o por cepas de algunos microorganismos con capacidad β -glucanásica, lo que mejoraría la actividad proteolítica intestinal de los pollos. Otro mecanismo podría derivarse del empleo de las bacterias ácido-lácticas, que actuarían mediante una inhibición del crecimiento de bacterias potencialmente patógenas por competencia por el mismo sustrato, cambios en el Ph o liberación de sustancias de efecto antibiótico. Estas complejas acciones pueden conducir a variaciones en la absorción de aminoácidos o en la utilización microbiana de estos, cuyo efecto serían los cambios en los valores de digestibilidad de la PB y de los aminoácidos obtenidos en nuestros trabajos.

5.6.7.- Retención de cenizas y minerales

Considerados los valores sobre retención de cenizas, estos no ofrecen variaciones significativas entre las dietas basales y la de referencia. Aquellas, sin embargo, ofrecen porcentajes inferiores (10% y 18% menos para las cebadas Alpha y Trait d'Union respectivamente).

La utilización de los diferentes microorganismos y de β -glucanasa no modificó significativamente la retención de cenizas. Podría hablarse, sin embargo, de efectos favorables cuando se incluyó la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* o la β -glucanasa

en la dieta con cebada Trait d'Union, con incrementos del 15 y 16%, respectivamente. Esta mejora aparente hizo que los valores de retención de las cenizas estuvieran muy próximos a los obtenidos con la dieta de referencia. Un efecto inverso se observó con el *B. subtilis* al mostrar una tendencia a disminuir la retención en un 10% para ambas cebadas.

El análisis específico para los distintos minerales ha mostrado que el empleo de los diversos microorganismos o β -glucanasa no permite llegar a conclusiones concretas. Puede hablarse de una tendencia clara a mejorar la retención del Ca, incluso significativa en el experimento nº 3 para los grupos con el *B. cereus* y con el *S. faecium*, así como para el Mg, aún cuando para este mineral la influencia de los microorganismos fue menos apreciable. A pesar de ello, es oportuno recordar que algunos autores como Marquard et al., (1979), usando dietas con centeno, cereal que también produce una alta viscosidad intestinal (Antoniou y Marquard, 1981; Fengler, 1988), encontraron una disminución en la retención de cenizas, principalmente debido a la menor retención del P. En razón de la viscosidad de la cebada y la degradabilidad de los β -glucanos por efecto del *B. cereus* y la β -glucanasa pudiera explicarse la mayor retención del Ca en nuestro estudio.

Georgievskii, en su ya famoso libro Mineral Nutrition of Animals (1982b) apunta que el empleo de lactosa favorece la absorción del Ca, Mg y Zn. Datos obtenidos por Tortuero (1984) muestran igualmente el efecto positivo de la lactosa sobre el Ca en ponedoras así como de una cepa de *L. acidophilus* + *S. casei* (datos no publicados). La lactosa favorece el crecimiento en el

intestino de bacterias acidófilas productoras de láctico, disminuyendo el Ph, lo que determina una mayor absorción del Ca. Para otros minerales los resultados difieren ampliamente y la discusión se hace innecesaria.

La retención del Na y del K únicamente se vio afectada cuando se adicionó *B. subtilis* a la dieta con cebada Alpha. Para esta dieta la retención del K llegó a descender en un 95% respecto al grupo testigo. La β -glucanasa, que no afectó la retención de K, cuando se adicionó en la dieta con cebada Trait d'Union hizo disminuir hasta un 21% la retención del Na.

Previo a cualquier comentario sobre los resultados obtenidos para los oligoelementos, conviene resaltar la dificultad que encierra la discusión de los valores correspondientes a las retenciones negativas del Fe, Mn y Zn en los experimentos 1 y 2 y del Mn y Zn en el experimento 3. Estos resultados negativos no parecen aconsejar análisis o comentarios que faciliten su interpretación.

A modo de resumen cabe decir que la inclusión de los microorganismos no ha afectado negativamente la retención de los minerales en general, llegando incluso a aumentar la retención del Ca para algunos tratamientos, lo cual puede implicar una mejor osificación del esqueleto de los pollos y mejor calidad de la cáscara en el caso de las gallinas ponedoras.

VI.- CONCLUSIONES

VI.- CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados expuestos en las tablas respectivas, referidos a crecimiento, consumo de pienso, eficiencia nutritiva, medidas viscerales, Ph de contenido ileal y cecal, EM, digestibilidad de la materia seca, PB, aminoácidos, almidón, grasa y FND, degradabilidad de los β -glucanos y retención de cenizas y minerales, y teniendo en cuenta la metodología descrita, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- 1º.- La adición de determinadas cepas de BAL en el pienso (*B. subtilis*, *B. cereus*, *S. faecium* y la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum*) o en el agua de bebida (mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium*) ha mejorado el crecimiento y eficiencia nutritiva del pienso en pollos alimentados con dietas conteniendo cebada como único cereal.
- 2º.- La adición de β -glucanasa a los piensos conteniendo cebada ha supuesto mayor ganancia en peso y eficiencia nutritiva en los pollos.
- 3º.- El efecto positivo de las BAL y enzima empleadas ha sido mayor cuando el contenido en β -glucanos de la cebada fue más elevado.
- 4º.- La utilización de *B. cereus* ha mejorado, a nivel intestinal, la degradación de los β -glucanos de la cebada.

- 5a.- El empleo de BAL y β -glucanasa ha determinado una disminución de la longitud intestinal de los pollos alimentados con dietas cebada-soja.
- 6a.- Los efectos derivados de la utilización de BAL sobre la digestibilidad y retención de diversas sustancias nutritivas difieren de unas bacterias a otras.
- 7a.- Como conclusión general se determina que el empleo de ciertas cepas de BAL y β -glucanasa han mejorado el valor nutritivo de la cebada para los pollos.

VII.- RESUMEN

VII.- RESUMEN

Con el fin de mejorar el valor nutritivo de la cebada incluida en dietas para pollos, se han utilizado diversas cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) o β -glucanasa.

En la primera parte de este trabajo, se ha determinado el contenido en β -glucanos de distintos cultivares de cebada, cosechados en zonas del Centro y Sur de España, durante 1988. De los resultados obtenidos se ha determinado que el contenido medio en β -glucanos de las cebadas analizadas fue del 3,8%, con variaciones entre el 2,8% y 4,86%, correspondiendo a las cebadas de primavera mayor concentración de estos polisacáridos frente a cebadas de invierno. Las condiciones ambientales de la zona de cultivo han tenido escasa influencia sobre los β -glucanos de la cebada.

La investigación "in vivo" se ha desarrollado en tres pruebas experimentales, con pollos tipo broiler, de edades comprendidas entre el 19 y 290 días de edad. Las aves fueron alimentadas con una dieta práctica que satisfacía las necesidades dadas por el NRC, cuyo contenido en cebada era del 60%. Al mismo tiempo, en los dos primeros experimentos se dispuso de un grupo de referencia en el que la cebada se sustituyó por maíz. La cebada empleada correspondió a dos cultivares - Alpha y Trait d'Union -, de contenido en β -glucanos medio y alto, respectivamente, procedentes de la provincia de Soria.

En los distintos experimentos, se han determinado los siguientes índices: crecimiento y eficiencia nutritiva del pienso, medidas viscerales y Ph en contenido ileo-cecal, energía metabolizable (EM), digestibilidad del almidón, grasa, fibra neutro-detergente (FND), proteína bruta (PB) y aminoácidos, retención de cenizas y minerales y degradabilidad de β -glucanos.

En el experimento nº 1, la dieta contenía el cultivar de cebada Alpha (3,23% de β -glucanos), y las BAL empleadas fueron: *Bacillus subtilis* IP5832 y una mezcla de *Lactobacillus acidophilus* NCL84 + *Streptococcus faecium* NCS97. También se utilizó un preparado de β -glucanasa (actividad enzimática: 10 U/g). Los resultados demostraron que el empleo de la mezcla *L. acidophilus* + *S. faecium* en el agua de bebida mejoró el crecimiento de los pollos en la 1ª y 3ª semana de edad, correspondiendo a estas mismas edades mejoras en la digestibilidad del almidón, PB y leucina. La longitud relativa del íleon fue menor. El empleo de *B. subtilis* determinó una reducción del Ph y de la longitud relativa ileal. La β -glucanasa mejoró la digestibilidad del almidón, PB y leucina, no afectando el crecimiento de las aves.

En la segunda prueba experimental, se utilizó el cultivar Trait d'Union, de mayor contenido en β -glucanos (4,36%), manteniéndose los mismos tratamientos que en el experimento anterior. La adición de *B. subtilis* o β -glucanasa al pienso incrementó la ganancia en peso a la 1ª y 2ª semana de edad, con aumentos en el consumo de pienso para la β -glucanasa en estos períodos. El empleo de *B. subtilis* significó aumentos en la digestibilidad de la PB y reducción de la retención de K. La adición de β -glucanasa, por su parte, disminuyó la longitud

relativa ileal, mejoró la EM y la digestibilidad de la materia seca, almidón y grasa y disminuyó la retención de Na.

El experimento nº 3 tuvo como objeto estudiar los efectos de la inclusión de *B. cereus*, *S. faecium*, y la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* en una dieta idéntica a la del experimento nº 2, en el que se utilizó cebada Trait d'Union. Los resultados mostraron que el *B. cereus* determinó mejoras en el índice de transformación a la 1ª semana, ganancia en peso a la 4ª semana y total del período y mayor consumo de pienso a la 2ª semana y total del período. Asimismo, pudo comprobarse que la longitud relativa del íleon era menor, mientras que los valores de EM, digestibilidad de la materia seca, PB, lisina, arginina, fenilalanina, histidina, tirosina y serina eran más elevados. La retención de Ca, Mg y Fe y la degradabilidad de los β -glucanos eran igualmente más altos.

El *S. faecium* dio lugar a un mayor crecimiento de los pollos e ingestión de pienso a las 2ª y 4ª semana y total del período, siendo menor el índice de transformación a la 1ª semana. Del mismo modo se apreció una reducción en la longitud relativa del íleon y aumento en la digestibilidad de la grasa y retención de Ca y Mg.

Por último, la mezcla *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* originó cambios positivos en la ganancia en peso a la 4ª semana y total del período y consumo de pienso a la 2ª semana, con mejoras en la digestibilidad de la grasa y disminución de la digestibilidad de la valina.

Se puede resumir finalmente que la adición de determinadas cepas de BAL, bien en el pienso o en el agua de bebida para los pollos, puede favorecer su crecimiento, mejorando el valor nutritivo de la cebada al influir en la digestibilidad de las distintas sustancias nutritivas y en el desarrollo del tracto intestinal.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

VIII.- BIBLIOGRAFIA

Aastrup, S. 1979a. The relationship between the viscosity of an acid flour extract of barley and its β -glucan content. Carlsberg Res. Commun. 44: 289-304.

Aastrup, S. 1979b. The effect of rain on β -glucan content in barley grains. Carlsberg Res. Commun. 44: 381-393.

Adams, O.L., Naber, E.C. 1969. Effect of physical and chemical treatment of grains on growth and feed utilization by the chick. I. Effect of water and acid treatment of corn, wheat, barley and expanded or germinated grains on chick performance. Poultry Sci. 48: 853-858.

Aman, P., Graham, H. 1987. Analysis of total and insoluble mixed -linked- β -D-glucans in barley and oats. J. Agric. Food Chem. 35: 704-709.

Aman, P., Hesselman, K. 1985. An enzymic method for analysis of total mixed-linked β -glucans in cereal grains. J. Cereal Sci. 3: 231-237.

Anderson, J.O., Dobson, D.C., Wagstaff, R.K. 1961. Studies on the value of hulles barley in chick diets and means of increasing this value. Poultry Sci. 40:1571-1584.

- Anderson, M.A., Cook, J.A., Stone, B.A. 1978. Enzymatic determination of (1-3),(1-4)- β -glucans in barley and other cereals. J. Inst. Brew. 84: 233-239.
- Antoniou, T., Marquardt, R.R., Cansfield, P.E. 1981. Isolation, partial characterization and antinutritional activity of a factor (pentosans) in rye grain. J. Agric. Food. Chem. 29: 1240-1247.
- A.O.A.C. 1975. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. W. Horwitz dir. A.O.A.C. 12th ed. Washington DC.
- Bach Knudsen, K.E., Eggum, B.O. 1984. The nutritive value of botanically defined mill fractions of barley. 3. The protein and energy value of pericarp, test, germ, aleuron, and endosperm rich decortication fractions of the variety Bomi. J. Anim. Phys. Anim. Nutr. 51: 130-148.
- Bach Knudsen, K.E., Wolstrup, J., Eggum, B.O. 1982. The nutritive value of botanically defined mill fractions of barley. 2. The influence of hind-gut microflora in rats on digestibility of protein and energy of endosperm and husk of Bomi and M-1508. J. Anim. Phys. Anim. Nutr. 48: 276-
- Ballance, G.M., Meredith, W.O. 1976. Purification and characterization of an endo- β -1,3-glucanase from green malt. J. Inst. Brew. 82: 64-67.
- Barrett, J., Claperton, J.F., Dirers, D.M., Rennie, H. 1973. Factors affecting wort separation. J. Inst. Brew. 79: 407-413.

Bathgate, G.N., Palmer, G.H., Wilson, G. 1974. The action of endo- β -1,3-glucanases on barley and malt β -glucans. J. Inst. Brew. 80: 278-285.

Bendelow, V.M. 1975. Determination of non-starch polysaccharides in barley breeding programmes. J. Inst Brew. 81: 127-130.

Berg, L.R. 1959. Enzyme supplementation of barley diets for laying hens. Poultry Sci. 38: 1132-1139.

Bhatty, R.S. 1982. Distribution of lipids in embryo and bran-endosperm fractions of Riso 1508 and Hiproly barley grains. Cereal Chem. 59: 154-156.

Bhatty, R.S. 1986. The potential of hull-less barley. A review. Cereal Chem. 63: 97-103.

Bhatty, R.S., Berdhal, J.D., Christison, G.I. 1975. Chemical composition and digestible energy of barley. Can. J. Anim. Sci. 55: 759-764.

Bhatty, R.S., Christison, G., Sosulski, F., Harvey, B., Hughes, G., Berdahl. 1974. Relationships of various physical and chemical characters to digestible energy in wheat and barley cultivars. Can. J. Anim. Sci. 54: 419-427.

Bhatty, R.S., Christison, G.I., Rossnagel, B.G. 1979. Energy and protein digestibilities of hulled and hullless barley determined by swine-feeding. Can. J. Anim. Sci. 59: 585-588.

- Bhatty, R.S., Rossnagel, B.G. 1980. Lipids and fatty acid composition of Riso 1508 and normal barleys. *Cereal Chem.* 57: 382-386.
- Bhatty, R.S., Slinkard, A.E. 1979. Composition, starch properties and protein quality of lentils. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 12: 88-92.
- Blum, J.C., Piton, P., Gautier, A. 1980. Etude preliminaire sur les constituants responsables de la mauvaise utilisation de l'orge chez le jeune poulet. *Reprod. Nutr. Develop.* 20: 1717--1722.
- Bourdon, D., Perez, J.M., Lebas, F., LeClercq, B., Lessire, M., Saveur, B. 1984. Les matières premières. Tables de composition. En "L'alimentation des animaux monogastriques", J.C. Blum ed. INRA. Paris. pp 170-171.
- Boyd, F.M., Edwards, H.M. 1967. Fat absorption by germ-free chicks *Poultry Sci.* 46: 1481-1483.
- Brisson, G.J. 1957. On the routine determination of chromic oxide in feces. *Can. J. Agric. Sci.* 36: 210-211.
- Broz, J., Frigg, M. 1986. Effects of cellulolytic enzyme products on the feeding value of various broiler diets. *Arch. Geflügelk.* 50: 104-110.

Broz, J., Frigg, M. 1990. Influence of *Trichoderma viride* enzyme complex on nutritive value of barley and oats for broiler chickens. Arch. Geflügelk. 54: 34-37.

Brufau, J., Nogareda, C., Pérez-Vendrell, A., Francesch, M., Esteve, E. 1991. Effect of *Trichoderma viride* enzymes in pelleted broiler diets based on barley. Anim. Feed Sci. Technol. 34: 193-202.

Burnett, G.S. 1966. Studies on viscosity as the probable factor involved in the improvement of certain barleys for chickens by enzyme supplementation. Br. Poult. Sci. 7: 55-76.

Campbell, G.L., Campbell, L.D., Classen, H.L. 1983a. Utilization of rye by chickens: Effects of microbial status, diet gamma irradiation and sodium taurocholate supplementation. Br. Poult. Sci. 24: 191-203.

Campbell, G.L., Classen, H.L., Goldsmith, K.A. 1983b. Effect of fat retention on the rachitogenic effects of rye fed to broiler chicks. Poultry Sci. 62: 2218-2223.

Classen, H.L., Campbell, G.L., Rossnagel, B.G., Bhatti, R., Reichert, R.D. 1985. Studies on the use of hulless barley in chick diets: deleterious effects and methods of alleviation. Can. J. Anim. Sci. 65: 725-733.

Coates, M.E., Cole, C.B., Fuller, R., Houghton, J.B., Yokota, H. 1981. The gut microflora and uptake of glucose from the small intestine of the chick. Br. Poult. Sci. 22: 289-294.

- Coates, M.E., Fuller, R. 1977. The gnotobiotic animal in the study of gut microbiology. En: Microbial ecology of the gut. R.T. Clarke and T. Beauchoup ed. Academic Press. New York. pp 311-346.
- Cole, J.R., Boyd, F.M. 1967. Fat absorption from the small intestine of gnotobiotic chicks. Appl. Microbiol. 15:1229.
- Collington, G.K., Parker, D.S., Armstrong, D.G. 1990. The influence of inclusion of either an antibiotic or a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. Br. J. Nutr. 64: 59-70.
- Coon, C.R., Shepler, R., McFarland, D., Nordheim, J. 1979. Nutritional evaluation of barley selections and cultivars from Washington State. Poultry Sci. 58: 913-918.
- Crawford, J.S. 1979. "Probiotics" in animal nutrition. Proc. Ark. Nutr. Conf. pp 45-51.
- Cummings, J.H., Englyst, H.N. 1987. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. Am. J. Clin. Nutr. 45: 1243-1255.
- Cummings, J.H., Englyst, H.N., Wiggins, H.S. 1986. The role of carbohydrates in lower gut function. Nutr. Rev. 44: 50-54.
- Champ, M., Szylił, O., Gallant, D.J. 1981. The influence of microflora on the breakdown of maize starch granules in the digestive tract of chicken. Poultry Sci. 60: 179-187.

Chung, I., Hadziyev, D. 1980. Tuber and starch characteristics of Alberta grown potatoes. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 13: 143-153.

De Blas, C. González, G., Argamentoría, A. 1987. Nutrición y Alimentación del ganado. Ed. Mundiprensa. Madrid. p 132.

De Silva, S., Hesselman, K., Aman, P. 1983. Effects of water and β -glucanase treatment on non-starch polysaccharides in endosperm of low and high viscous barley. Swedish J. Agric. Res. 13: 211-219.

Demarne Y., Sacquet, E., Flanzky, J., Garnier, H., Francois, A.C. 1970. Utilization digestive apparente des acides gras chez le rat axenique et le rat holxenique. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 10: 369.

Demarne, Y., Sacquet, E., Garnier, H. 1972. La flore gastro intestinale et la digestion des matieres grasses chez le mono gastrique. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 12: 509.

Dilworth, B.C., Day, E.J. 1978. *Lactobacillus* cultures in broiler diets, (abstract). Poultry Sci. 57: 1101.

Edney, M.J., Campbell, G.L., Classen, H.L. 1989. The effect of 225-glucanase supplementation on nutrient digestibility and growth in broilers given diets containig barley, oat groats or wheat. Anim. Feed Sci. Technol. 25: 193-200.

Elwinger, K., Säterby, B. 1987. The use of β -glucanase in practical broiler diets containig barley or oats. Effect of enzyme level, type and quality of grain. Swedish J. Agric. Res. 17: 133-140.

El-Negoumy, A.M., Newman, C.W., Moss, R.B. 1979. Amino acid composition of total protein and electrophoretic behavior of protein fractions of barley. Cereal Chem. 56: 468-473.

Ewertsson, G. 1977. Protein content and grain quality relations in barley. Ph.D. Dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.

Fengler, A.I. 1986. Water-soluble pentosans in rye: Some of their antinutritive properties in situ and isolated form and their effect "in vitro" and "in vivo" in chicks. Ph.D. Thesis, University of Manitoba.

Fethiere, R., Miles, R.D. 1987. Intestinal tract weight of chicks fed an antibiotic and probiotic. Nutr. Rep. Int. 36: 1305-1309.

Fincher, G.B. 1976. Ferulic acid in barley cell walls; A fluorescence study. J. Inst. Brew. 82: 347-349.

Fleming, M., Kawakami, K. 1977. Studies of the fine structure of β -D-glucans of barley extracted at different temperatures. Carbohydr. Res. 57: 15-23.

Fleming, M., Manners, D.J. 1966. A comparison of the fine structure of lichenin and barley glucan. Biochem. J. 100: 4-5.

Forrest, I.S., Wainwright, T. 1977. The mode of binding of β -glucans and pentosans in barley endosperm cell walls. J. Inst. Brew. 83: 279-286.

Fox, G.J. 1981. The effect of waxy endosperm, short awn, and hulls seed genes upon biochemical and physiological seed characteristics important in barley (*Hordeum vulgare*, L.) utilization. Ph.D. Dissertation. Montana State University, Bozeman.

Fry, R.E., Allred, J.B., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1957. Influence of water treatment on nutritional value of barley. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95: 249-251.

Fry, R.E., Allred, J.B., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1958. Influence of enzyme supplementation and water treatment on the nutritional value of different grains for poults. Poultry Sci. 37: 372-375.

Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. Br. Poult. Sci. 18: 85-94.

Fuller, R. 1984. Microbial activity in the alimentary tract of birds. Proc. Nutr. Soc. 43: 55-61.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. A review. J. Appl. Bact. 66: 365-378.

Furuse, M., Yokota, H. 1984. Effect of the gut microflora on the size and weight of organs of chicks fed diets of different protein content. Br. Poult. Sci. 25: 429-439.

García de la Calera, F., Roca, R., Barragán, J.I. 1988a. Estudio de cereales españoles. Campaña 1987: cebada cervecera. Anaporc. 8: 14-20.

García de la Calera, F., Roca, R., Barragán, J.I. 1988b. Estudio de cereales españoles. Campaña 1987: cebada caballar. Anaporc. 8: 28-34.

Georgievskii, V.I. 1982. General information on minerals. En: Mineral Nutrition of Animals. V.I. Georgievskii, B.N. Annenkov y V.I. Samokhin ed. Butterworths. p 51.

Gilliland, S.E. 1989. Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumers. J. Dairy Sci. 72: 2483-2494.

Gilliland, S.E., Speck, M.L. 1977. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilly. Appl. Environ. Microbiol. 33: 15-18.

Goering, K.J., Eslick, R.F. 1976. Barley starch. VI. A self liquefying waxy barley starch. Cereal Chem. 174-180.

Gohl, B., Alden, S., Elwinger, K., Thomke, S. 1978. Influence of β -glucanase on feeding value of barley for poultry and moisture content of excreta. Br. Poultry Sci. 19: 41-47.

- Ghol, B., Ghol, I. 1977. The effect of viscous substances on the transit time of barley digesta in rats. *J. Sci. Food Agric.* 28: 911-915.
- González, G., Treviño, J., Zaera, E. 1969. Variaciones morfológicas y del valor nutritivo del grano de distintas variedades de cebada por efecto del año de cultivo. *Av. Alim. Mej. Anim.* 10: 17-34.
- Green, S., Solange, L., Bertrand, M., Duron, J.C., Maillard, R. 1987. Digestibilities of amino acids in maize, wheat and barley meals, determined with intact and caecectomised cockerels. *Br. Poult. Sci.* 28: 631-641.
- Hagberg, A., Karlsson, K.E. 1969. Breeding for high protein and quality in barley. En: *New approaches to breeding for improved plant protein*. pp 22-28. IAEA/FAO. pub. nº 212. Vienna.
- Henry, P.R., Ammerman, C.B., Miles, R.D. 1986. Influence of virginiamycin and dietary manganese on performance, manganese utilization, and intestinal tract weight of broilers. *Poultry Sci.* 65: 321-324.
- Henry, R.J. 1986. Genetic and environmental variation in the pentosan and β -glucan content of barley, and their relation to malting quality. *J. Cereal Sci.* 4: 269-277.
- Herstad, O., McNab, J.M. 1975. The effect of heat treatment and enzyme supplementation on the nutritive value of barley for broiler chicks. *Br. Poultry Sci.* 16: 1-8.

- Hesselman, K. 1983. Effects of β -glucanase supplementation to barley based diets for broiler chickens. Ph.D. Dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences. pp 7-9. Uppsala.
- Hesselman, K., Aman, P. 1986. The effect of β -glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low- or high-viscosity. Anim. Feed Sci. Technol. 15: 83-93.
- Hesselman, K., Elwinger, K., Nilsson, M., Thomke, S. 1981. The effect of β -glucanase supplementation, stage of ripeness, and storage treatment of barley in diets fed to broiler chickens. Poultry Sci. 60: 2664-2671.
- Hesselman, K., Elwinger, K., Thomke, S. 1982. Influence of increasing levels of β -glucanase on the productive value of barley diets for broiler chickens. Anim. Feed Sci. Technol. 7: 351-358.
- Hesselman, K., Thomke, S. 1982. Influence of some factors on development of viscosity in the water-extract of barley. Swedish J. Agric. Res. 12: 17-22.
- Hijikuro, S. 1983. Improvement of feeding value of barley by enzyme supplementation. Jpn. Agric. Res. Q. 17: 55-58.
- Hill, F.W., Anderson, D.L. 1958. Comparison of metabolisable energy and productive energy determinations with growing chicks. J. Nutr. 64: 587-603.

- Huhtanen, C.N., Pensack, J.M. 1965. The development of the intestinal flora of the young chick. *Poultry Sci.* 44: 825-830.
- Igarashi, O., Sakurai, Y. 1966. Studies on the non-starchy polysaccharides of the endosperm of naked barley. 2. The periodate oxidative degradation of F-1 β -glucan prepared from the endosperm. *Agr. Biol. Chem.* 30: 642-645.
- Ikegami, S., Tsuchihashi, F., Harada, H., Tsuchihashi, N., Nishide, E., Innami, S. 1990. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. *J. Nutr.* 120: 353-360.
- Jensen, S.A., Aastrup, S. 1981. A fluorimetric method for measuring 1,3;1,4- β -glucan in beer, wort, malt, and barley by use of calcofluor. *Carlsberg Res. Commun.* 46: 87-95.
- Jensen, L.S., Fry, R.E., Allred, J.B., McGinnis, J. 1957. Improvement in the nutritional value of barley for chicks by enzyme supplementation. *Poultry Sci.* 36: 919-921.
- Jiraphocakul, S., Sullivan, T.W., Shahani, K.M. 1990. Influence of a dried *Bacillus subtilis* culture and antibiotics on performance and intestinal microflora in turkeys. *Poultry Sci.* 69: 1966-1973.
- Jones, B.N., Pääbo, S., Stein, S. 1981. Amino acid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved O-phthalaldehyde precolumn labeling procedure. *J. Liq. Chromatogr.* 4: 565-586.

Karkalas, J. 1985. An improved enzymic method for the determination of native and modified starch. *J. Sci. Food Agric.* 36: 1019-1027.

Kimura, N., Yoshikane, M., Kobayashi, A. 1986. Microflora of the bursa of Fabricius of chickens. *Poultry Sci.* 65: 1801-1807.

Krueger, W.F., 1978. The interaction of gentian violet and lactobacillus organisms in the diet of Leghorn hens, (abstract). *Poultry Sci.* 56: 1729.

Laerdal, O.A., Bird, H.R., Sunde, M.L., Phillips, P.H. 1959. Improvement in nutritional value of some barleys by the addition of malt or enzyme supplements. *Poultry Sci.* 38: 1221.

Leach, H.W., Schoch, T.J. 1962. Structure of the starch granule. II. Solubility of granular starches in dimethyl sulfoxide. *Cereal Chem.* 39: 318-327.

LeClercq, B., Blum, J.C., Saveur, B., Stevens, P. 1984. Recommendations alimentaires. Poulets de chair à croissance rapide. En "L'alimentation des animaux monogastriques". J.C. Blum ed. INRA. Paris. pp 85-93.

Leong, K.C., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1962. Effect of water treatment and enzyme supplementation on the metabolizable energy of barley. *Poultry Sci.* 41: 36-39.

Longstaff, M., McNab, J.M. 1986. Influence of site and variety on starch, hemicellulose and cellulose composition of wheats and

- their digestibilities by adult cockerels. Br. Poult. Sci. 27: 435-449.
- Lorentz, K. 1979. The starch of the fababean (*Vicia faba*). Comparison with wheat and corn starch. Starch. 31: 181-184.
- March, B.E. 1979. The host and its microflora: an ecological unit. J. Anim. Sci. 49: 857-867.
- Marquardt, R.R. 1983. A simple spectrophotometric method for the direct determination of uric acid in avian excreta. Poultry Sci. 62: 2106-2108.
- Marquardt, R.R., Ward, A.T., Misir, R. 1979. The retention of nutrients by chicks fed rye diets supplemented with amino acids and penicillin. Poultry Sci. 58: 631-640.
- Mason, V.C. 1980. Role of the large intestine in the processes of digestion and absorption in the pig. In: Current Concepts of Digestion and Absorption in Pigs, Technical Bulletin no 3. A.G. Low and I.G. Patridge ed. Reading. UK. pp 112-129.
- Matterson, L.D., Potter, L.M., Stutz, M.W., Singsen, E.P. 1965. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. Res. Rep. Ag. Exp. St. Un. Connect. 7: 3-11.
- McArthur, L.A., D'Appolonia, B.L. 1984. Gamma radiation of wheat. 2. Effects of low-dosage radiations on starch properties. Cereal Chem. 61: 321-326.

- McClearn, B.V., Glennie-Holmes, M. 1985. Enzymic quantification of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and malt. J. Inst. Brew. 91: 285-295.
- McNab, J.M. 1973. The avian caeca: a review. World's Poult. Sci. J. 29: 251-263.
- Mead, G.C., Adams, B.W. 1975. Some observations on the caecal microflora of the chick during the first two weeks of life. Br. Poult. Sci. 16: 169-176.
- Meluzzi, A., Franchini, A., Giordano, G. 1986. Lattobatteri e bifidobatteri nell'alimentazione del pollo da carne. Avicoltura. 55: 54-56.
- Misir, R., Marquardt, R.R. 1978. Factors affecting rye (*Secale cereale* L.) utilization in growing chicks. II. The influence of protein type, protein level and penicillin. Can. J. Anim. Sci. 58: 717-730.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1984. Tablas de composición de primeras materias para nutrición animal. M.A.P.A., AINPROT y CEFPC, Madrid.
- Molina-Cano, J.L., Conde, J. 1982. Genetic and environmental variation of gum content in barley. J. Inst. Brew. 88: 30-33.
- Moran, E.T. 1982. Starch digestion in the fowl. Poultry Sci. 61: 1257-1267.

Moran, E.T., McGinnis, J. 1965. The effect of cereal grain and energy level of the diet on the response of turkey poults to enzyme and antibiotic supplements. Poultry Sci. 44: 1253-1261.

Moss, B.R., Beeckler, A.F., Newman, C.W. 1975. Barley varieties as an ingredient in poultry rations. Montana Nutrition Conference. pp 66-75.

Moss, B.R., Beeckler, A.F., Hari, R., Newman, C.W. 1974. Nutritional value of barley for poultry. Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci. 25: 162-165.

Munck, L., Karlsson, K.E., Hagberg, A. 1969. Selection And Characterization of a high-protein, high-lysine variety from the World Barley Collection. Proc. 2nd. Barley Genet. Sym. R.A. Nilan ed. Washigthon State University Press, Pullman, Wa.

Nesheim, M.C., Carpenter, K.J. 1967. The digestion of heat-damaged protein. Br. J. Nutr. 21: 399-411.

Newman, C.W., Eslick, R.F., Rasmuson, R.C. 1973. Nutritional value of Hiproly barley, (abstract). J. Anim. Sci. 37: 289.

Newman, C.W., Eslick, R.F., Rasmuson, R.C. 1974. Effects of barley variety on protein quality and nutritional value for rats. J. Anim. Sci. 38: 71-75.

Newman, R.K., Newman, C.W. 1987. Beta-glucanase effect on the performance of broiler chicks fed covered and hulless barley

isotypes having normal and waxy starch. Nutr. Rep. Int. 36: 693-699.

Newman, R.K., Newman, C.W. 1988. Nutritive value of a new hull-less barley cultivar in broiler chick diets. Poultry Sci. 67: 1573-1579.

Novacek, E.J., Pedersen, C.F. 1967. Metabolizable energy of the anatomical parts and other fractions of western barley and the effect of enzymes and water treatment. Poultry Sci. 46: 1008-1015

NRC, 1984. Nutrient Requirements of poultry. 8th edition, National Academy of Sciences, Washington DC. pp 11-15.

Owings, W.J., Reynolds, D.L., Hasiak, R.J., Ferket, P.R. 1990. Influence of dietary supplementation with *S. faecium* M-74 on broiler body weight, feed conversion, carcass characteristics, and intestinal microbial colonization. Poultry Sci. 69:1257-1264.

O'Sullivan, C. 1882. Alpha and beta-amylase: constituents of some cereals. J. Chem. Soc. 41: 24-32.

Palmer, G.H. 1975. Influence of endosperm structure on extract development of barley. J. Am. Soc. Brew. Chem. 33: 174-180.

Parsons, C.M., Potter, R.D., Brown, R.D., Wilkins, T.D., Bliss, B.A. 1982. Microbial contribution to dry matter and amino acid content of poultry excreta. Poultry Sci. 61: 925-932.

Pérez-Vendrell, A.M., Francesch, M., Brufau, J. 1987. Valoración de cebadas para nutrición aviar mediante técnicas de viscosidad. XXV Symposium de la Sección Española de la WPSA. Barcelona. pp 83-86.

Perlin, A.S., Suzuki, S. 1962. The structure of lichenin: selective enzymolysis studies. Can. J. Chem. 40: 50-56.

Pettersson, D., Aman, P. 1989. Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. Br. J. Nutr. 62: 139-149.

Pettersson, D., Graham, H., Aman, P. 1990. Enzyme supplementation of broiler chicken diets based on cereals with endorperm cell walls rich in arabionxylans or mixed-linked β -glucans. Anim. Prod. 51: 201-207.

Pettersson, D., Hesselman, K., Aman, P. 1987. Nutritional value for chickens of dried distillers-spent-grain from barley and dehulled barley. Anim. Feed Sci. Technol. 17: 145-156.

Potter, L.M., Stutz, M.W., Matterson, L.D. 1965. Metabolizable energy and digestibility coefficients of barley for chicks as influenced by water treatment or by presence of fungal enzyme. Poultry Sci. 44: 565-573.

Piratzky, W. 1936. Veber die viskositat von malzwürzen. Woch. Brav. 53: 105-108.

Preece, I.A., McKenzie, K.G. 1952. Non starch polysaccharides of cereal grains. 1. Fraction of the barley gums. J. Inst. Brew. 58: 353-362.

Rickes, E.L., Ham, E.A., Moscatelli, E.A., Ott, W.H. 1962. The isolation and biological properties of a β -glucanase from *B. subtilis*. Arch. Biochem. Biophys. 69: 371-375.

Salih, M.E., Classen, H.L., Campbell, G.L. 1991. Response of chickens fed on hull-less barley to dietary β -glucanase at different ages. Anim. Feed Sci. Technol. 33: 139-149.

Salomonsson, A.-C., Theander, O., Aman, P. 1980. Composition of normal and high-lysine barleys. Swedish J. Agric. Res. 10: 11-16.

Salter, D.N. 1973. The influence of gut microorganisms on the utilization of dietary protein. Proc. Nutr. Soc. 32: 65-71.

Schuster, K., Narziss, L., Kumada, J. 1967. Über die gumminstoffe der gerste und ihre veränderungen beim mälzen und maischen. Brauwiss. 20: 185-206.

Scott, M.L. 1979. Factors affecting the digestibility of feedstuffs. Proc. Ark. Nutr. Conf. 79: 1-7.

Scott, M.L., Nesheim, M.C., Young, R.J. 1973. Alimentación de las Aves. M.L. Scott y asociados ed. Gea, Barcelona.

Shewry, P.R., Pratt, H.M., Leggatt, M.M., Mifflin, B.J. 1979. Protein metabolism in developing endosperms of high-lysine and normal barley. *Cereal Chem.* 56: 110-117.

Smith, H.W. 1965. The development of the flora in the alimentary tract of young animals. *J. Pathol. Bacteriol.* 90: 495-513.

Smith, D.B., Morgan, A.G., Aastrup, S. 1980a. Variation in the biochemical composition of acid extracts from barleys of contrasting malting quality. *J. Inst. Brew.* 86: 277-283.

Smith, D.B., Morgan, A.G., Gill, A.A. 1980b. The major biochemical constituents of an acid extract of barley flour as used in viscosity determinations by the falling ball method. *J. Inst. Brew.* 86: 113-119.

Staudte, R.G., Woodward, J.R., Fincher, G.B., Stone, B.A. 1983. Water soluble (1-3),(1-4)- β -D-glucans. 3. Distribution of cellotriosyl and cellotetraosyl residues. *Carbohydr. Polymers.* 3: 299-312.

Steel, R.G., Torrie, J.H. 1985. Bioestadística, principios y procedimientos. McGraw-Hill. 1ª ed. en español. México DC. pp 118 y 180.

Stutz, M.W., Johnson, S.L., Judith, F.P. 1983. Effect of diet, bacitracin, and body weight restrictions on the intestine of broiler chicks. *Poultry Sci.* 62: 1626-1632.

Stutz, M.W., Lawton, G.C. 1984. Effects of diet and antimicrobial on growth, feed efficiency, intestinal *Clostridium perfringens*, and ileal weight of broiler chicks. Poultry Sci. 63: 2036-2042.

Szylił, O.G., Charlet, M., Champ, M., Popot, F., Le Coz, Y, Galpin, J., Rainaud, P. 1978. Influence of the gnotoxenic state on the utilization of carbohydrates by chickens. VI Int. Sym. Gnotobiol. Ulm, FRG. p 23.

Tahir, S.U., Porubcan, R.S., Gulstrom, T. 1983. Application of *Lactobacillus acidophilus* in the water of growing turkey poult examined. Feedstuffs. 55: 26-27.

Tallberg, A. 1977. The amino acid composition in endosperm and embryo of a barley variety and its high lysine mutant. Hereditas. 87: 43.

Theander, O., Aman, P. 1979. Studies on dietary fibres. 1. Analysis and chemical characterization of water-soluble and water-insoluble dietary fibres. Swedish J. Agric. Res. 9: 97-106.

Thomas, J.M., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1961. Interference with the nutritional improvement of water-treated barley by antibiotics. Poultry Sci. 40: 1204-1208.

Thomke, S., Rundgren, M., Elwinger, K. 1978. Evaluation of hiproly-type barleys fed to rats, pigs, broilers and laying hens. Swedish J. Agric. Res. 8: 39-53.

Thomsen, M.G. 1977. Nutritive value of barley varieties to broilers. Beretn. Forsgslab. Stat. Husdyrbreegrudvalg. Copenhagen. p 460.

Torp, J. 1980. Variation in the concentration of major carbohydrates in the grain of some spring barleys. J. Sci. Food Agric. 31: 1354-1360.

Tortuero, F. 1973. Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poultry Sci. 52: 197-203.

Tortuero, F., Brenes, A., Riopérez, J. 1973. Influencia de la flora intestinal y la implantación de gérmenes lácticos sobre los niveles de colesterol en el suero y yema de huevo de gallinas ponedoras. Granja. 23: 16-18.

Tortuero, F., Cosín, C. y Martín, L. 1989. Digestibilidad del almidón de los cereales y producción de ácidos grasos volátiles en el buche y ciegos de las gallinas. Actas de la XXV Reunión científica de la SINA. Madrid.

Tortuero, F., Martín, L., Rejas, J. 1990a. *Bacillus cereus*, virginiamicina y valor nutritivo de la cebada para los pollos. Arch. Zootec. 39: 35-42.

Tortuero, F., Riopérez, J., Martín, L., Viñarás, R. 1990b. *B. cereus* y virginiamicina en dietas para lechones. Arch. Zootec. 39: 67-75.

- Trowell, H., Southgate, D.A., Wolever, T.M., Leeds, A., Gasull, M. Jenkins, D.J. 1976. Dietary fiber redefined. *Lancet*. 1: 967-.
- Urbain, W.H. 1984. Irradiated foods: a giant step beyond appart. *Nutrition Today*. 19: 9.
- Van Soest, P.J., McQueen, R.W. 1973. The chemistry and stimation of fibre. *Proc. Nutr. Soc.* 32: 123-130.
- Vanbelle, M. 1982. Quelques réflexions à propos des acides aminés et des protéolissats de portéines en nutrition animale. *Zootechnica International*.
- Welch, R.W. 1978. Genotypic variation in oil and protein in barley grain. *J. Sci. Food Agric.* 29: 953.
- White, W.B., Bird, H.R., Sunde, M.L., Marlett, J.A., Prentice, N.A., Burger, W.C. 1983. Viscosity of β -glucan as a factor in the enzymatic improvement of barley for chicks. *Poultry Sci.* 62: 853-862.
- Wiedmer, H., Völker, L. 1989. Enzyme supplementation of barley based diet fed to broiler chickens under practical conditions. En: *Proceedings of the 7th European Symposium on Poultry Nutrition*. Lloret de Mar. pp 322-323.
- Willingham, H.E., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1959. Studies on the role of enzyme supplements and water treatment for improving the nutritional value of barley. *Poultry Sci.* 38: 539-544.

Willingham, H.E., Leong, K.C., Jensen, L.S., McGinnis, J. 1960. Influence of geographical area of production on response of different barley samples to enzyme supplements and water treatment. Poultry Sci. 39: 103-108.

Wolf, M.J., Melvin, E.H., García, W.J., Dimler, R.J., Kwolek, W.F. 1970. Amylose determination in dimethylsulfoxide extracts of maize. Cereal Chem. 47: 437-446.

Wong, D.K. 1978. Digestibility of the mayor carbohydrate components (starch and neutral detergent fiber) of several cereal grains in poultry. M.Sc. Thesis. University of Manitoba, Winnipeg.

Woodward, J.R., Fincher, G.B., Stone, B.A. 1983a. Water-soluble (1-3),(1-4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. 2. Fine structure. Carbohydr. Polymers. 3: 20-29.

Woodward, J.R., Phillips, D.R., Fincher, G.B. 1983b. Water-soluble (1-3),(1-4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. 1. Physicochemical properties. Carbohydr. Polymers. 3: 143-156.